FACULTÉ DE PHARMACIE UNIVERSITE DE STRASBOURG

ANNÉE SCOLAIRE 1939-1940 N° 262

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE ET EXPÉRIMENTALE DU DOSAGE des SULFATES URINAIRES

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le [illegible] Août 1940
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Saleh SEIF
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. A. SARTORY, Doyen, Président
M. Y. VOLMAR
M. C. LAPP } Juges

IMPRIMERIE GÉNÉRALE 2, COURS SABLON
CLERMONT-FERRAND
—
1940

FACULTÉ DE PHARMACIE — UNIVERSITE DE STRASBOURG

ANNÉE SCOLAIRE 1939-1940 — N° 262

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE ET EXPÉRIMENTALE DU DOSAGE des SULFATES URINAIRES

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 8 Août 1940
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Saleh SEIF

Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. A. SARTORY, Doyen, Président ; M. Y. VOLMAR, M. C. LAPP — Juges

IMPRIMERIE GÉNÉRALE 2, COURS SABLON
CLERMONT-FERRAND

1940

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ❋, I. ✪, C. ❀
VOLMAR, *Assesseur*, I. ✪.
MARANDON, *Secrétaire*, ❋, ⚜, ❦, ✪.

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ❋, I. ✪, ❀.

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ❋, I. ✪, C. ❀.	Bactériologie.
	LAVIALLE, ❋, I. ✪, ❀.....	Botanique
	VOLMAR, I. ✪.....	Chimie organique.
	GUILLAUME, ❋, ⚜, I. ✪, ❀..	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. ✪.....	Chimie analytique.
	CORDIER, ✪.....	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, ✪, ❀.....	Matière médicale.

MAITRE DE CONFÉRENCE

M.	DUQUENOIS.....	Toxicologie.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ❋, I. ✪, ❀.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY.....	Hygiène.
	LAVIALLE.....	Hydrologie.
	VOLMAR.....	Chimie minérale.
	GUILLAUME.....	Zoologie
	LAPP.....	Physique
	EISEMANN.....	Législation et Déontologie.
	CORDIER.....	Chimie biologique.
	R. SARTORY.....	Cryptogamie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, ⚜, I. ✪.....	Chimie pharmaceutique.
	Me LALLEMAND, ✪.....	Chimie et Physique.
	MEYER, ✪.....	Bactériologieet Parasitologie
	JÆGER.....	Histoire naturelle.

UNIVERSITÉ DE CLERMONT

ECOLE DE PLEIN EXERCICE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

PROFESSEURS DE PHARMACIE

DIRECTEUR :

M. J. CASTAIGNE, C. ✻, I. ✪ .... Membre associé national de l'Académie de Médecine.

PROFESSEURS :

MM.	L. BERT, I. ✪	Chimie biologique.
Mme	L. BLANQUET, ✻, I. ✪	Physique.
MM.	P. FEBVRE, ✪	Pharmacie galénique
	J.-B. FOURNIER, I. ✪	Matière médicale.
	M. D. GAUTHIER, I. ✪	Chimie.
	M. LEVADOUX, O. ✻, I. ✪	Hydrologie.
	P. MORNAC, I. ✪	Bactériologie et hygiène.
	R. VAURS, ✪	Histoire naturelle. Parasitologie.

PROFESSEUR SUPPLÉANT

M. G. DASTUGUE ..... Physiologie

SECRÉTAIRE

M. G. CUVIER, I. ✪.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR SARTORY

DOYEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
PROFESSEUR DE BACTÉRIOLOGIE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

Hommage de vive admiration
et de respectueuse gratitude.

A MES JUGES :

MONSIEUR LE PROFESSEUR Y. VOLMAR

DIRECTEUR DU LABORATOIRE DE CHIMIE GÉNÉRALE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

MONSIEUR LE PROFESSEUR Ch. LAPP

PROFESSEUR DE CHIMIE ANALYTIQUE ET DE TOXICOLOGIE
DIRECTEUR DU LABORATOIRE DE PHYSICO-CHIMIE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Hommage de profond respect et de vive reconnaissance.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Dont le souvenir me restera toujours fidèle et dont la vie me sera un exemple.

A MA MERE

Reconnaissance et affections filiales qui dépassent toutes nos paroles.

A MES SŒURS

Avec l'expression de ma grande affection.

A mes Frères :

Farid SEIF

Ingénieur des Travaux Publics

Fouad SEIF

Médecin

Auxquels vont toute ma très affectueuse reconnaissance pour les sacrifices faits pour moi.
Je leur dédie ce travail.

A mon Frère :

Fahim SEIF

Avocat

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

En gage de ma reconnaissance d'une amitié profonde et durable.

AVANT-PROPOS

Avant d'entrer dans l'exposé de ce travail, qu'il nous soit permis d'exprimer à Monsieur le Professeur Ch. LAPP toute notre gratitude et notre reconnaissance. C'est grâce à sa bienveillance et à son amitié que nous avons pu mener à bien nos études dans cette Faculté de Pharmacie de Strasbourg. C'est un grand honneur pour nous, car il nous suffit de songer au Maître qui, après nous avoir accueilli dans son laboratoire, n'a cessé de nous témoigner la plus grande bienveillance et nous le remercions de nous avoir fait profiter de son enseignement dans des conditions aussi troublées. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre admiration et de notre hommage bien sincères.

Nos vifs remerciements vont à Monsieur le Doyen SARTORY qui a bien voulu avec empressement accepter la présidence de notre thèse.

Nous adressons également à Monsieur le Professeur VOLMAR l'expression de notre respectueuse reconnaissance pour avoir bien voulu accepter de faire partie de notre Jury de thèse.

Nous ne voudrions pas oublier Madame DARRAUD, assistante de la Chaire de Chimie analytique, auprès de laquelle nous trouvâmes toujours l'accueil le plus sincère.

Au moment de terminer nos études, c'est pour nous un agréable devoir de présenter nos remerciements à tous nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg pour l'enseignement précieux qu'ils nous ont donné. Nous leur associons également les Maîtres de l'Ecole de Pharmacie de Clermont-Ferrand auprès desquels nous avons toujours trouvé l'accueil le plus aimable.

Nous remercions infiniment nos camarades français et en particulier Strasbourgeois et Clermontois pour l'amitié et les témoignages de fraternité qui nous ont unis sur cette terre de France infiniment hospitalière. Soyez certains, mes chers amis, que nous ferons tout ce qui est en notre pouvoir pour sceller davantage les liens séculaires qui unissent l'Egypte et la France.

INTRODUCTION

Parmi les nombreuses techniques que les expérimentateurs s'ingénient tous les jours, soit à mettre sur pied, soit à perfectionner dans le but de pousser plus loin les investigations touchant la physiologie, la chimie biologique, il semble qu'il n'y en ait point de plus classique, de plus sûre et de mieux étudiée que le dosage des sulfates.

En réalité cependant, si l'on met à part les techniques pondérales précises, mais extrêmement longues et délicates, il n'existe pas de technique rapide permettant de faire des mesures précises à quelques pour cent près, et pourtant sur des quantités de sulfates de l'ordre du milligramme ou d'une fraction de milligramme, méthode assez sûre, assez rapide, pas trop pénible non plus et permettant à un technicien de multiplier les dosages et d'effectuer, par exemple en une journée, deux cents titrages d'acide sulfurique.

Le problème est d'importance, car il intéresse vivement à la fois, les physiologistes, les médecins et les pharmaciens. Il a été abordé par bien des auteurs.

Dans le présent travail, nous allons résumer, tout d'abord, les principales méthodes en nombre d'ailleurs assez restreint auxquelles dans la pratique les auteurs précédents ont fait appel.

On verra comment, sur le même thème de la précipitation en sulfate de baryum, ou de la précipitation benzidinique, les auteurs se sont ingéniés à modifier les modus opérandi, les tours de main et artifices de laboratoire ; la seule énumération de ces techniques est une preuve que l'on n'a pas résolu le problème et cependant un grand nombre d'études d'ordre théorique et d'ordre clinique pourrait être abordé si l'on avait en main une technique répondant aux conditions que nous venons de préciser plus haut.

Sans anticiper sur ce qui sera exposé plus tard, disons tout de suite que par sa présence dans les catalyseurs d'oxydo-réduction (glutathion), le soufre joue le rôle le plus important dans les équilibres rédox qui au sein des tissus constituent la base même de la vie. On trouve du soufre aussi dans maintes autres circonstances : équilibre cystine-cystéine, etc...

Son élimination sous la forme d'ions, sous la forme de complexes sulfo-phéniqués, ou sous la forme de complexes organiques très stables, est la preuve que le soufre intervient dans une multitude de réaction au sein même de l'organisme et non seulement à l'état de soufre *de passage* absorbé journellement avec les aliments, éliminé assez vite, et où il intervient d'une manière importante dans les fonctions urinaires et sécrétoires, mais aussi et c'est peut être là son caractère le plus important, le soufre *reste* et provoque des réactions intimes qui régissent au sein des cellules, la consommation des facteurs d'énergie et l'élimination des déchets de la vie.

Notre travail qui ne doit être considéré que comme une recherche préliminaire comporte sept parties :

Dans la première partie, nous rappelons les principales formes du soufre dans l'élimination urinaire, à laquelle nous limitons pour le moment notre attention.

Dans la deuxième partie, nous résumons des thèses de médecine où les auteurs se sont efforcés de mettre sur pied des méthodes soit-disant « cliniques », c'est-à-dire rapides et d'une technique aisée.

Dans la troisième partie, nous résumons des mesures qui ont été exposées, en particulier dans le *Bulletin de la Société de Chimie biologique* et qui présentent des caractères de recherche théorique particulièrement poussées et soignées.

Dans la quatrième partie, pour poser le problème que nous cherchons en discutant les conditions de précipitation de l'ion SO^4 en SO^4Ba.

Dans la cinquième partie, nous exposons nos recherches sur la suspension colloïdale et son emploi en néphélémétrie.

Dans la sixième partie, nous avons amorcé une étude sur l'influence de toutes les substances dissoutes à côté des sulfates dans l'urine.

Dans la septième partie, nous proposons une autre technique basée sur l'emploi du gel de gélatine opalescent.

PREMIERE PARTIE

Nous allons résumer ici les documents les plus classiques sur tout ce qui concerne l'origine du soufre dans l'organisme et sa présence dans l'urine sous diverses formes en énumérant rapidement les dosages auxquels on a fait appel jusqu'ici.

CHAPITRE PREMIER

OUVRAGES CLASSIQUES

Le soufre est un métalloïde très répandu dans la nature. Au même titre que l'azote, le carbone, l'hydrogène et l'oxygène, il entre dans la condition des tissus du règne animal et végétal.

Par l'intermédiaire des aliments, nous absorbons une quantité déterminée de soufre ; l'élimination se fait sous forme de déchets sulfurés dans l'urine.

Le soufre provient aussi de la désintégration des matières albuminoïdes, s'oxyde pour passer à l'état d'acide sulfurique et se combine ensuite soit à des bases minérales, soit à des phénols venus de l'intestin. Il est difficile d'admettre que les soufres puissent circuler à l'état SO^4H^2 dans l'organisme. Monsieur le Professeur MAILLARD (1), parlant des sulfates sulfo-conjugués, écrit : « Rien ne prouve qu'il y a éthérification par

l'acide SO^4H^2 reformé et deux voies sont possibles dans la construction de ces éthers :

I. Oxydation du soufre en acide sulfurique et éthérification du phénol.

II. Fixation préalable du soufre sur la molécule organique et oxygénation du soufre déjà combiné, l'amenant à la forme saturée ».

L'auteur ajoute ensuite : peut-être dans le soufre neutre faut-il voir des termes initiaux et inachevés de la sulfo-conjugaison.

Le soufre urinaire se présente donc sous différentes formes et on peut établir la classification suivante :

a) Soufre total.

b) Soufre acide { soufre minéral ionisé. / soufre sulfo-conjugué non ionisé.

c) Soufre neutre { soufre organique profondément lié à des édifices protéiniques.

Dans l'urine normale, on trouve :

SO^4H^2 total à la dose de	1,85 0/00
Soufre minéral et sulfoconjugué	1,19 0/00
Soufre neutre.	0,66 0/00

Origine du soufre urinaire.

Dans certains cas pathologiques, ces diverses quantités peuvent augmenter considérablement.

Un dosage du soufre dans l'urine renseigne sur l'activité hépatique et sur la déficience du foie ; ce dosage présente également un grand intérêt dans les pyrexies et dans les septicémies où les toxines microbiennes peuvent léser la cellule hépatique dans son fonctionnement normal. Enfin, il permet de déceler les troubles de la nutrition dans les diastases.

Les sulfates de l'urine proviennent pour une partie des sulfates absorbés avec les aliments, mais seulement pour une faible partie, car les aliments sont ordinairement très pauvres en sulfates. Une petite quantité préexiste dans les ingesta.

A l'état normal, l'acide sulfurique est neutralisé soit par les alcalis alimentaires chez les herbivores, soit par l'ammoniaque

produit dans l'organisme aux dépens des matières protéiques chez les carnivores.

Si les aliments ont été, au préalable, déminéralisés, l'acide sulfurique qui se forme dans l'économie n'est plus saturé et la mort arrive plus rapidement qu'à la suite de l'inanition absolue. Dans ces circonstances, l'addition du bicarbonate de soude aux aliments déminéralisés permet de prolonger la vie.

Les substances albuminoïdes, les protéïdes, la substance collagène, sont des substances sulfurées ; par oxydation, elles fournissent de l'acide sulfurique qui, en présence de carbonate alcalin des tissus, donnent des sulfates et du gaz carbonique.

L'execrétion des sulfates s'élève à deux grammes environ par vingt-quatre heures, elle est parallèle à celle de l'urée, la formation de ces deux dérivés aux dépens des albumines s'exagérant avec la désagrégation de celle-ci. Voici une analyse des sels minéraux d'une urine d'un homme de poids moyen. Le nombre se rapporte à la quantité totale de l'urine éliminée en 24 heures :

Acide sulfurique	2 gr.
acide phosphorique.....	3,15
chlore des chlorures.	7 gr.
ammoniaque.	0,75
potassium.....	2,50
sodium.	11,50
calcium	0,25
magnésium.....	0,20

Voici, d'autre part, les résultats d'analyse de l'urine normale (alimentation normale) :

2 gr. 50 à 2 gr. 70 de soufre total.
2 gr. 25 à 2 gr. 43 de soufre complètement oxydé.
0 gr. 25 à 0 gr. 27 de soufre incomplètement oxydé.

Il est difficile de trouver des nombres absolus ; on dose seulement la partie du soufre ingéré qui peut être éliminée par les urines, il y a une autre partie éliminée par les autres sécrétions, la desquamation, les fèces, etc...

Chez l'individu, en état pathologique, il y a variation selon la nutrition.

Cause d'erreur dans les dosages du soufre.

1° Erreurs inhérentes à la méthode employée.

2° Erreurs dues à l'impureté des réactifs.

Il n'est pas sans intérêt d'insister sur ces deux points.

Toute méthode, même imparfaite, est susceptible de fournir des résultats intéressants à condition qu'elle soit suivie avec rigueur et que l'opérateur sache tenir compte des erreurs expérimentales inhérentes à la méthode elle-même ou à l'existence du coefficient personnel d'interprétation (mesures colorimétriques ou opacimétriques).

Les dosages des sulfates, d'après les concentrations sus indiquées, sont des *micro* ou des *semi-micro* dosages : la présence des sulfates, assez fréquente dans les réactifs, exige donc des contrôles soignés préalables ou des mesures comparatives « à blanc », afin d'éliminer les sulfates présents ou d'en tenir compte.

Méthodes générales de Dosages

D'après Morel (2), l'acide sulfurique se trouve sous deux états :

L'acide des sulfates métalliques ordinaires ou soufre complètement oxydé et celui qui est combiné aux corps aromatiques ou soufre incomplètement oxydé.

Nous avons à nous occuper des problèmes suivants :

1° Dosage du soufre total.
2° Dosage des sulfates minéraux.
3° Dosage du soufre des éthers sulfuriques.
4° Dosage du soufre complètement oxydé.
5° Dosage du soufre incomplètement oxydé.
6° Caractérisation du soufre des hyposulfites.
7° Caractérisation et dosage du soufre des sulfures minéraux.

1° *Dosage du soufre total.* — Pour cela, on met l'échantillon d'urine dans une capsule en porcelaine qu'on dessèche sur le feu d'une lampe à alcool pur, car la combustion des gaz d'éclairage dégagerait de l'acide sulfurique. On additionne ensuite le résidu de poudre nitratée, on fait fondre le tout en remuant avec un fil de platine jusqu'à éclaircissement.

Cette méthode de minéralisation est excellente ; elle a fait

depuis longtemps ses preuves, car elle est rapide et très facile à exécuter.

Voici la formule de la poudre nitratée employée :

Nitrate de K pulvérisé.....	8 grammes
Carbonate de K pur et anhydre	1 gramme
Carbonate de Na pur et anhydre	1 gramme

On laisse refroidir, puis on dissout la masse fondue dans l'eau bouillante en laissant le résidu restant qui est formé par le CO^3Fe. On centrifuge ; on acidule par HCl ajouté goutte à goutte pour chasser le gaz carbonique et on centrifuge à nouveau ; on décante le liquide clair dans un deuxième tube à centrifuger et on lui ajoute les eaux de lavage du premier tube. On place ce tube à centrifuger sur un support dans un vase plein d'eau. On chauffe celle-ci à l'ébullition, on ajoute goutte à goutte une solution de $BaCl^2$ à 20% jusqu'à excès ; on s'assure que quelques gouttes de réactif ne produisent plus aucun trouble dans la liqueur ; on continue à chauffer ; on laisse refroidir ; on centrifuge ; on essaie si une goutte de solution de $BaCl^2$ ne précipite plus ; on décante ; on lave à l'eau distillée jusqu'à ce que celle-ci ne produise plus de louche avec NO^3Ag ; on centrifuge une dernière fois, on sèche à l'étuve à 105° jusqu'à poids constant et l'on pèse : *calcul*, le poids de sulf. Ba $\times$ 0,13734, correspond au soufre total.

2° *Dosage des sulfates minéraux.* — On soumet à la dialyse le liquide aqueux provenant de l'échantillon ; dans le liquide qu'a traversé la membrane où dans l'urine qui n'a pas besoin d'être dialysée, mais seulement débarrassée d'albumine par ébullition et filtration, on dose les sulfates minéraux de la façon suivante :

On prend 50 cc d'urine qu'on additionne convenablement d'acide acétique jusqu'à réaction nettement acide ; on ajoute 50 cc d'eau, puis peu à peu la solution $BaCl^2$ en excès, on chauffe au bain marie jusqu'à séparation complète de précipité ; le poids de SO^4Ba trouvé multiplié par 0,34335 correspond au poids de SO^3 renfermé dans les sulfates minéraux. On a soin de conserver les eaux mères du précipité.

3° *Dosage du soufre des éthers sulfates.* — Dans les eaux mères du précipité de SO^4Ba, on fait tomber 5 cc de HCl fumant, on chauffe continuellement pendant une heure, à mesure que

la saponification s'effectue, le SO^4Ba qui prend naissance précipite et se rassemble. On sépare le précipité, on le lave, on le sèche comme précédemment, on conserve les eaux mères pour doser le soufre incomplètement oxydé.

Les poids de $SO^4Ba \times 0{,}13734$ correspond au poids du soufre éthéro-sulfurique contenu dans la prise d'essai ; multiplié par 0,34335 correspond au poids de SO^3 dans les éthers sulfuriques.

4° *Dosage du soufre complètement oxydé.* — 50 cc d'urine sont additionnés du même volume d'acide HCl à 10%, le mélange est chauffé à l'ébullition pendant une demi-heure, on filtre, on additionne les eaux de lavage jusqu'à épuisement du précipité, on additionne une solution de $BaCl^2$ en excès, le précipité se sépare, on le lave, on le sèche comme précédemment, on conserve les eaux mères ; le poids de $SO^4Ba \times 0{,}13734$ correspond au poids du soufre complètement oxydé.

Cependant dans ce dosage, le soufre des dérivés sulfonés n'est pas compté (par exemple le soufre de médicament ou de poison).

5° *Dosage du soufre incomplètement oxydé.* — Les eaux mères provenant de la troisième et de la quatrième manipulation sont divisés en deux portions : la première portion est placée dans une capsule en porcelaine, on ajoute 40 grammes de ClO^3K, on évapore au bain marie. Sur le résidu, on ajoute, goutte à goutte, 50 cc d'HCl avec précaution, on évapore à sec et on recommence l'évaporation deux à trois fois. On reprend le résidu par l'eau, on ajoute $BaCl^2$, on sépare, on lave, on sèche et on pèse le SO^4Ba formé.

Le poids de $SO^4Ba \times 0{,}13734$ correspond au poids du soufre incomplètement oxydé.

Dans la deuxième portion placée dans une capsule en porcelaine, on ajoute une dizaine de grammes de poudre nitratée, on évapore à sec, on dose le soufre total suivant la technique.

Le poids de $SO^4Ba \times 0{,}13734$ correspond au soufre complètement oxydé total de la portion correspondante.

6° *Caractérisation du soufre des hyposulfites.* — L'urine additionnée de 1/10 de son volume d'HCl dans une cornue munie d'un réfrigérant descendant, est soumise à la distillation, s'il

y a des hyposulfites, il y a un dépôt de soufre. Dans le col de la cornue et dans le distillat bien refroidi dans la glace, il passe SO^2 qu'on reconnaît en ajoutant un peu de poudre de zinc et HCl et on chauffe, il se dégage un gaz qui noircit le papier à l'acétate de plomb et qui colore le papier à l'émétique au rouge.

7° *Caractérisation et dosage du soufre des sulfures minéraux. Caractérisation.* — On ajoute 1 cc de SO^4H^2 à 50 cc d'urine, on fait couler à la surface 10 cc de réactif de « Caro Fischer », suivant la formule :

H^2O.	10 cc
Paramidodiméthylaniline	0,5 gr.
$FeCl^3$ officinal.	1 goutte

s'il y a formation d'un anneau bleu à la surface de séparation, cela indique la présence d'H^2S.

Dosage : l'urine additionnée d'acide SO^4H^2 1% jusqu'à réaction acide est placée dans un ballon à extraire le gaz ; les gaz recueillis sont analysés. Pour cela, on fait absorber l'H^2S par une solution 10% de SO^4Cu légèrement acidulée par SO^4H^2 avant de faire absorber le gaz acide par la potasse. Le poids du litre d'H^2S à 0° sous la pression 760 mm est de 1 gr. 5230.

CHAPITRE II

INTÉRÊTS CLINIQUES

1° Cas des sulfates.

Les sulfates sont diminués dans la paralysie agitante. On note également une diminution dans la chorée et le délirium tremens, affections dans lesquelles il y a une grande dépense musculaire.

2° Cas des sulfates sulfo-conjugués.

Le taux normal est de 0 gr. 10 par 24 heures ; il augmente dans toutes affections où il y a exagération des fermentations microbiennes intestinales, quand l'organisme est le siège de suppuration abondante, et enfin par l'injection de certains médicaments à fonction phénol. On note également une augmentation chez les épileptiques et les sitophobes.

3° Cas du soufre neutre.

La proportion du soufre neutre augmente d'une manière notable dans l'ictère, la pneumonie et la cystinurie.

Dans la plupart des cas, les variations du soufre urinaire laissent supposer une variation de la quantité d'urée. Effectivement ainsi que le fait remarquer P. Yvon (3) dans son manuel

clinique de l'analyse des urines, « les matières protéiques renferment du soufre, mais ces matériaux étant en même temps azotés, il y a aussi augmentation de l'urée, il en résulte que les variations de l'urée et des sulfates se suivent ».

Le rapport de l'acide SO^4H^2 à l'urée est d'environ 1 à 14.

Avec une alimentation mixte, l'urine renferme par 24 heures douze à quatorze fois d'SO^4H^2 pour cent d'azote.

Cas pathologiques.

Ictère, pneumonie, le soufre non oxydé atteint et dépasse la dose normale du soufre minéral des sulfates, c'est-à-dire 1 0/00.

Applications à la clinique

Comment utiliser en clinique les résultats obtenus et quand faut-il faire ces recherches ?

1° Dès qu'on se trouve en présence d'un malade dont on soupçonne le foie en état de déficience, il y a lieu de faire immédiatement un prélèvement d'urine en vue de l'examen des rapports d'échange du soufre, ce qui donnera des renseignements précis sur l'activité hépatique.

2° Dans les septicémies où les toxines microbiennes peuvent léser la cellule hépatique dans son fonctionnement normal.

3° Dans les pyrexies pour savoir comment fonctionne le foie, l'ingestion de médicaments comme l'acétanilide, la phénacétine, l'antipyrine, le gaïacol, restreignant les oxydations en augmentant par conséquent les déchets azotés ou nécessitant pour s'éliminer une conjugaison que le foie déficient est incapable de faire.

4° Dans les diasthèses, pour savoir s'il existe des troubles dans la nutrition.

« Ayant eu l'occasion d'appliquer cette recherche pour un « malade présentant une leucémie dont les éléments leucocy- « taires ne donnaient pas les réactions des oxydases, nous avons « trouvé un foie déficient quant aux oxydations. Il y a lieu de « se demander s'il ne serait pas intéressant de l'appliquer systé- « matiquement afin de voir tout le parti que la clinique générale « pourrait en tirer. »

L'exploration du foie par l'examen des rapports du soufre

constitue un mode intéressant d'investigation car il est très précis et donne toutes les certitudes possibles.

Pour cette étude, il y a un gros avantage à recourir à la méthode pondérale que nous avons indiqué, car elle réduit les erreurs possibles au minimum et elle présente sur la méthode volumétrique une supériorité marquée quant à la précision des résultats obtenus.

Les résultats pouvant être influencés par l'absorption d'aliments contenant des proportions inusitées de soufre, il faut éliminer ceux-ci, car il convient d'écarter les causes qui peuvent fausser ou influencer un résultat. Le mieux est de mettre le sujet à un régime constant et connu durant quarante-huit heures et de faire le prélèvement des urines pendant les secondes quarante-huit heures.

Les coefficients donnant un résultat quantitatif de la fonction oxydante du foie et du degré d'imperfection de cette fonction, il y a lieu de les rechercher dans tout état pathologique avant d'instituer une thérapeutique ; l'absorption de médicaments diminuant ou ralentissant les processus, ne peut qu'augmenter l'azote résiduel et causer des troubles insoupçonnés du clinicien, troubles provenant des substances azotées incomplètement oxydées.

Dans tous les cas, il y a lieu de renouveler l'exploration à des dates déterminées, car on en tire un élément de pronostic et on peut suivre pas à pas l'état de déficience du foie.

De tous les procédés d'exploration du foie, c'est le seul qui soit vraiment quantitatif de la lésion de la cellule hépatique.

La désagrégation des éléments organiques a pour conséquence nécessaire une production de substances acides parmi lesquelles l'acide SO^4H^2 est le plus important comme masse. En effet, l'observation montre que les quatre cinquièmes du soufre, contenus dans les matières albuminoïdes se transforme par oxydation en acide SO^4H^2, qui s'élimine par les urines. Une ration de 100 grammes d'albumine (à 1% de soufre) fournit de la sorte dans les vingt-quatre heures environ, 2 gr. 40 d'SO^4H^2.

« La quantité d'SO^4H^2 secrétée avec l'urine dépend-elle toujours et seulement de la quantité ingérée, ou bien rencontre-t-on des cas dans lesquels la sécrétion de cette substance est augmentée ou diminuée par d'autres influences ? » Jusqu'à présent, la question n'a pas été résolue d'une manière satisfaisante.

Cette secrétion peut être augmentée par certaines influences et, en particulier, par les *courants de haute fréquence.*

L'alimentation étant déterminée, une fois pour toutes et restant absolument la même pour chacun des trois sujets, pendant le temps de l'expérience, voici les résultats qui ont été obtenus pour les urines de 24 heures. Ce sont les sulfates proprement dits que nous avons dosés dans cette expérience.

Sujet A	*Sujet B*	*Sujet C*
Moyenne 2,97	Avant le traitement 2,65	2,57
— 3,64	Pendant — 3,18	3,09
— 2,80	Après — 3,16	2,96

Il y a une augmentation très nette dans l'élimination des sulfates pendant toute la durée du traitement, qui disparaît presque aussitôt que les séances d'application de la haute fréquence sont supprimées.

Du reste, le dosage des sulfates ne fait pas double emploi avec celui de l'urée.

Nous trouvons dans presque tous les auteurs, que le dosage des sulfates marche de pair avec celui de l'urée, il n'est donc pas intéressant de le faire.

« Les matières protéïques renferment du soufre, mais ces matériaux étant en même temps azotés, il y a aussi augmentation de l'urée, il en résulte que les variations de l'urée et des sulfates se suivent ». (3)

Conclusion.

L'SO^4H^2 urinaire provient presque exclusivement de l'oxydation du soufre des matières albuminoïdes ; aussi ses variations journalières sont-elles parallèles à celle de l'azote urinaire. D'après Ludazto (4), en effet, les sulfates sont diminués dans la paralysie agitante, tandis que l'urée, bien qu'accrue par rapport à l'azote total, reste normale.

Plus récemment, d'intéressantes considérations concernant l'élimination des sulfates ont été émises par divers auteurs dans des ouvrages médicaux.

Les composés sulfo-conjugués de l'urine peuvent avoir pour origine la modification intestinale soit des aliments, soit des produits d'élimination par les bactéries de la putréfaction.

Longtemps on a admis que l'indol se transforme progressivement en indoxyle, puis en dérivés glyco et sulfo-conjugués, mais là n'est pas exactement leur source, on admet, en effet, aujourd'hui avec le Professeur Chiray (5) que les « sulfo-conju-

gués urinaires représentent le terme normal de la destruction des albuminoïdes dans l'organisme », donc leur dosage ne peut pas comme on l'a supposé plusieurs fois précédemment donner une idée de la valeur de la fermentation intestinale. L'élimination du soufre est certainement en rapport avec les concentrations du soufre sanguin ; or, le Professeur Lœpper (5) a constaté par des dosages précis que dans certains cas d'intoxication alimentaire, de toutes petites quantités de substances riches en soufre, peuvent provoquer un véritable déclanchement de l'élimination soufrée. L'auteur fait intervenir, dans cette circonstance, le processus anaphylactique dans lequel de très petites quantités de l'ordre de quelques γ peuvent produire l'élimination de masses importantes de substances riches en soufre libéré, soit dans le sang, soit ultérieurement dans tous les agents éliminatoires.

Les syndromes des putréfactions apparaissent quand la flore appropriée prend un développement exagéré ; il s'en suit une importante libération d'ammoniaque, de corps toxiques tels que l'histamine, la tyramine accompagnant les alcalinités exagérées des selles de Ph supérieur à 7 ; certains de ces corps toxiques peuvent être éliminés sous forme de dérivés sulfo-phéniqués dans les urines, mais ils peuvent aussi intervenir à distance et produire des désordres divers dans l'organisme ; le foie intervient alors pour produire la rupture de certains noyaux toxiques ; dans le cas où ces noyaux résistent, la détoxication se produit par une conjugaison ou une acétylation.

La conjugaison avec un corps soufré (ou sulfo-conjugaison) avec l'acide glycuronique (ou glycuronoconjugaison), produit le blocage du noyau toxique dans la forme non toxique.

Des substances aromatiques comme le phénol, le scatol, l'indol sont peu toxiques. Cependant neutralisées par le foie sous forme de sulfo-conjugaison, elles se transforment en sulfo-dérivés dans les urines ; l'indol se trouve sous forme d'indoxyl-sulfates.

Une défaillance hépatique entraîne une diminution des sulfo-conjugaisons, il est donc impossible, comme il a été signalé précédemment, de déceler par le dosage du soufre éliminé, les insuffisances hépatiques et toutes les actions d'intolérance de chimiothérapie, le choc anaphylactique qui sont sous la dépendance de l'insuffisance des voies d'élimination. Ceci se traduit par une variation importante dans l'élimination des dérivés sulfo-conjugués.

DEUXIEME PARTIE

DOSAGES CLINIQUES

Les médecins qui s'intéressent aux méthodes de laboratoire et qui ont souci d'établir des rapports entre les résultats des analyses et les données de la clinique ont dosé le soufre urinaire sous ses trois formes principales.

Leur préoccupation a été, avant tout, de mettre en jeu des méthodes rapides et faciles ; sauf dans des cas très particuliers, il est impossible, en effet, aux laboratoires d'un service médical, déjà chargé, par ailleurs, d'un grand nombre de mesures journalières déjà compliquées par elles-mêmes, de mettre en jeu des méthodes pondérales, longues, délicates, et il faut le dire, assez fastidieuses.

Dans le présent chapitre, nous allons résumer le travail de plusieurs auteurs qui se sont placés au point de vue que nous venons d'indiquer et l'étude critique de leur méthode va nous montrer que le problème n'est pas résolu.

CHAPITRE PREMIER

DOSAGES EN SO^4Ba PAR LA METHODE DES APPROXIMATIONS SUCCESSIVES

Description et critique des procédés connus :

Méthode des pesées.

On n'a nullement l'intention de critiquer ce procédé pour sa justesse, mais il demande les plus grandes précautions et par conséquent, beaucoup plus de temps que ne peut en donner un clinicien au dosage d'un élément urinaire.

Wurtz (6) dit dans son dictionnaire :

1° Un peu de sulfate Ba peut rester en solution dans les solutions fortement acides.

2° Le précipité peut, au contraire, entraîner une petite quantité de certains sels surtout l'azotate de baryum et des sels alcalins quelquefois plus de 10%.

3° Il faut une balance de précision, un creuset en platine ; or, les cliniciens n'ont pas ces deux instruments que l'on ne rencontre guère que dans les laboratoires ; et leur prix est trop élevé pour que tout médecin puisse les payer. Mais avant tout, il faut beaucoup trop de temps, puisque deux heures environ sont nécessaires à un seul dosage. En un mot, cette méthode n'est pas clinique.

Nous avons rapidement éliminé quatre ou cinq méthodes de dosage des sulfates par réactifs colorés, à cause des incompatibilités qu'elles présentaient avec les autres éléments de l'urine.

Une seule de WILDENSTEIN (7) avait paru devoir donner des résultats, couramment employée pour le dosage du plâtre et dans les vins, mais que nous avons dû modifier à cause de la présence des phosphates dans l'urine.

Le principe. — En solution neutre, les sels de baryum précipitent par le chromate de potasse et en prélevant une goutte de liquide que l'on porte au contact d'une autre goutte d'une solution d'acétate de plomb, correspond une coloration jaune rougeâtre de chromate Pb, dès qu'il y a un excès de chromate de potasse.

Les résultats sont assez exacts.

Nous avons dû nous rabattre sur les méthodes dont la réaction indicatrice est constituée par un trouble.

Il s'agit de précipiter des sels de Ba par des sulfates d'après la formule :

$$SO^4H^2 + BaCl^2 = SO^4Ba + 2HCl$$

C'est la méthode de WURTZ (6).

En allant des procédés les moins bons vers ceux qui nous paraissent les meilleurs, nous trouvons d'abord le procédé de MOHR. (8)

Méthode de MOHR.

Deux reproches à faire à cette méthode :

1° Il faudrait commencer par éliminer les phosphates puisqu'on doit opérer en solution neutre ce qui n'est pas impossible ainsi que nous le savons à l'aide de l'acétate d'urane ; mais c'est une complication dont on ne peut absolument se dispenser.

2° Le mode opératoire assez compliqué et ce lavage de précipités de SO^4Ba, nous ramène absolument à la méthode des pesées et par conséquent est passible des mêmes inconvénients.

Méthode de NEUBAUER et VOGEL (9).

Principe : une quantité déterminée d'urine plus 4 cc de solution titrée de $BaCl^2$ correspond à un précipité SO^4Ba. Seulement

il ne faut pas oublier que dès qu'on ajoute à un volume déterminé d'urine faiblement acide par HCl, une quantité exactement équivalente de $BaCl^2$, on atteint un point neutre où le liquide filtré se trouble légèrement aussi bien avec l'acide SO^4H^2 qu'avec $BaCl^2$. Dans la solution formée, on doit regarder le KCl, $BaCl^2$ et SO^4K^2 comme étant dans un certain état d'équilibre ; de sorte que si l'on ajoute du $BaCl^2$ ou SO^4K^2, l'équilibre est détruit et du SO^4Ba se dépose.

Si l'on titre jusqu'au point neutre, il est convenable de donner à la solution de $BaCl^2$ une concentration telle que 1 cc renferme exactement une quantité de baryte équivalant à 10 mgr. d'SO^4H^2. Le point neutre peut être atteint facilement et les résultats sont très satisfaisants. On regarde le titrage comme terminé si dans deux échantillons du liquide filtré, un léger trouble est produit avec une égale intensité aussi bien par le $BaCl^2$ que par le SO^4K^2.

Critique.— Le même reproche que la méthode d'Yvon (3) au point de vue du temps inutile employé à attendre que le précipité de SO^4Ba se soit déposé. Ce procédé est plus simple en principe, mais il est peut être moins rigoureux.

La précipitation de l'acide sulfurique par $BaCl^2$ entraîne un trouble très net de la solution, même pour une trace très faible d'ions SO^4 ; on a fondé sur l'observation du précipité la méthode approchée qui consiste à ajouter une solution titrée connue de $BaCl^2$ à un volume également connu d'urine et à chercher par approximations successives quelle est la quantité de solution $BaCl^2$ qui précipite la *totalité* du soufre ionisé contenu dans le liquide complexe.

Nous allons résumer ici la méthode mise en jeu par Bosc (10),

Dosage des trois formes du soufre urinaire

1° Dosage des sulfates proprement dits :

a) Prendre 100 cc d'urine acidulée par CH^3COOH dans un verre à expérience, ajouter 20 cc de $BaCl^2$ titré, filtrer et recueillir dans deux petits verres à expérience 1 cc de liquide dans chacun, laisser tomber une goutte de solution $BaCl^2$ dans un des deux et une goutte de sulfate K titré dans le deuxième, attendre jusqu'au louche dans un des deux. Ajouter 10 cc de la solution

titrée qui a produit le louche, filtrer, agiter fortement l'entonnoir, rajouter à la première 10 cc de la solution qu'on a filtrée sur le filtre. Rechercher dans lesquels des deux se produit le louche.

b) 10 cc de la solution qui a donné le louche donne un trouble par la solution opposée. On est sûr alors que la quantité de solution est comprise entre 0,1 et 10 cc.

Il suffit alors de quatre essais pour terminer l'opération :

Dans le premier	employer	5 cc.
— deuxième	—	2 cc.
— troisième	—	1 cc.
— quatrième	—	0,50 cc.

c) Retrancher le nombre de cc employés de la solution SO^4K^2 du nombre de cc de la solution de $BaCl^2$: le chiffre trouvé multiplié par 10, donne le nombre de grammes de SO^4H^2 anhydre 0/00.

Remarque. — Il faut employer H^2O distillée parce que l'eau ordinaire contient des sulfates.

2° Dosage des sulfates sulfo-conjugués.

Il faut d'abord libérer l'acide sulfo-conjugué, le décomposer en SO^4H^2 et phénol car le phénylsulfate de Ba est soluble.

Pour décomposer, porter le liquide à l'ébullition avec son volume d'HCl au bain-marie, plus excès de $BaCl^2$.

Le liquide séparé (SO^4Ba) + 3 cc HCl concentré, chauffer au bain-marie à 100° (les phénols et paracrésols sont volatils).

a) Recueillir dans un ballon le liquide de SO^4Ba, laver avec H^2O distillée, le filtrer, réunir les eaux, + 20 cc HCl pur + 10 cc $BaCl^2$ titré. Faire bouillir 15 minutes.

b) On emploie le premier coup 5 cc de la solution titrée de SO^4K^2. Puis, 2 cc de la solution qui aura donné le trouble, terminer comme pour le sulfate. Ajouter 10 cc $BaCl^2$, + nombre de cc de solution nécessaire pour obtenir le point neutre.

Le chiffre multiplié par 10 correspond à la quantité de SO^4H^2 anhydre 0/00 correspondant au sulfate sulfo-conjugué.

3° Destruction des matières organiques.

Il est nécessaire d'avoir une capsule d'Ag. Evaporer 50 cc d'urine, plus 2 à 3 gr. CO^3Na^2, plus 5 à 6 gr. No^3K, incinérer, reprendre par H^2O et HCl.

Doser le SO^4Ba.

Remarque. — Il faudrait avoir un moyen plus rapide de détruire la matière organique.

Les mélanges oxydants employés.

25 cc d'urine, plus 25 cc MnO^4K 1 gr. pour 200 et par 1 cc acide phosphorique : à l'ébullition on obtient une décoloration.

Dose double de MnO^4K, puis acide NO^3H, puis SO^4H^2 en tenant compte de la quantité employée.

Mais l'oxydation n'a pas été complète.

L'eau régale est plus énergique (Cl naissant).

Mélange de ClO^3K + HCl donne le même résultat.

L'acide chromique est le plus énergique.

Mode opératoire.

a) Le ballon 100 cc urine + 4 cc de CH^3COOH, plus 40 cc acide chromique 1%. Faire bouillir 10 minutes.

b) Doser les sulfates formés par le même procédé que pour les sulfates proprement dits.

Le chiffre obtenu multiplié par 10, donne SO^4H^2 anhydre correspond à tout le soufre urinaire. En retranchant le chiffre des sulfates totaux, on trouve le soufre neutre.

Résultats. — Pour une urine contenant après calcination 1,85 0/00 d'SO^3 correspondant au soufre total, il a été obtenu par l'acide chromique 1 gr. 60, 1 gr. 68, 1 gr. 70, 1 gr. 68. Il y a entre ces chiffres un assez gros écart. L'auteur préconise cependant cette méthode à cause de sa commodité.

L'urine contenant 1,19 anhydride sulfurique correspond aux sulfates totaux ; on a pour le soufre neutre :

1 gr. 68 — 1 gr. 19 + 0 gr. 49 au lieu de
1 gr. 85 — 1 gr. 19 + 0 gr. 66 qui est le chiffre exact.

La technique imaginée par Bosc présente, sans doute,

l'avantage d'être rapide et facile, mais elle manque sûrement de précision de l'avis même de l'auteur. Elle ne permet guère de reconnaître des variations du soufre neutre par exemple dépassant 0 gr. 2, si l'on se rappelle que la quantité normale du soufre neutre est de 0 gr. 6, on se rend compte que la méthode par approximations successives ne peut permettre aucun dosage systématique présentant quelque garantie de précision, puisqu'elle implique des erreurs normales de l'ordre de 30%. Il faudrait pouvoir arriver à une précision au moins dix fois plus grande, ce que la méthode des approximations successives ne nous permet sûrement pas d'obtenir.

CHAPITRE II

MICRODOSAGE PONDERAL EN SO^4Ba

Quelque pénible que soit le dosage pondéral du soufre, les auteurs se sont résignés à l'employer en simplifiant dans la mesure du possible.

Dans les habitudes et le principe de la technique du microdosage, on évite la calcination du filtre ; on fait appel par conséquent à la méthode générale du creuset de GOOCH. Par des méthodes dues à FOLIN le dosage des sulfates conjugués se fait selon la technique classique par hydrolyse à l'ébullition en solution fortement chlorhydrique. Enfin, avec BENEDICT, le soufre total serait obtenu par oxydation en solution aqueuse par le nitrate de cuivre et nitrate de potassium.

Voici d'après DERRIEN et FONTÈS (11), le résumé de ces techniques :

« *Sulfates minéraux.* — A 40 cm^3 d'urine environ, ajouter son volume d'une solution alcaline de chlorure de baryum (obtenue par le mélange de solutions saturées à froid de chlorure de baryum un volume, et d'hydrate de baryum deux volumes), agiter vivement et laisser reposer. Après dépôt du précipité, décanter le liquide surnageant que l'on met de côté pour rechercher les sulfoconjugués. Traiter le précipité par quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour dissoudre le phosphate de baryum formé. Le précipité restant est constitué par du sulfate de baryum formé aux dépens des *sulfates minéraux* de l'urine.

Sulfates conjugués aromatiques ou sulfoconjugués. — Prendre le liquide séparé par décantation, dans l'opération précédente, y ajouter 8 à 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur et chauffer à l'ébullition modérée, pendant 15 à 20 minutes. On décompose ainsi les sulfoconjugués de l'urine avec mise en liberté de l'acide sulfurique, lequel donnera un précipité de sulfate de baryum avec l'excès de chlorure de baryum que renferme la liqueur.

L'importance du précipité ainsi obtenu donnera une indication sur la proportion de ces sulfoconjugués urinaires.

Poudre de composés ne renfermant pas l'ion SO^4. — (Sulfocyanure, cystine, etc...). Dans un matras de 200 cc de capacité, introduire environ 50 cc d'urine avec quelques fragments de zinc pur, ajouter goutte à goutte de l'acide chlorhydrique jusqu'à dégagement apparent d'hydrogène environ 1 cc et suspendre dans le col du ballon un papier préalablement trempé dans une solution d'acétate de plomb. Ce papier noircit au contact de l'hydrogène sulfuré formé par l'action de l'hydrogène sur le soufre neutre.

Dosages des différentes formes du soufre urinaire d'après Derrien et Fontès (11)

« **1° Dosage de soufre des sulfates minéraux** (méthode de Folin). — Dans une fiole d'Erlenmeyer de 200 à 250 cc de capacité, placer 25 cc d'urine et environ 100 cc d'eau avec 10 cc d'acide chlorhydrique dilué (1 volume acide chlorhydrique concentré d = 1,20 et 4 volumes d'eau) ; dans ce mélange, verser goutte à goutte et sans agiter ; 10 cc d'une solution de chlorure de baryum à 5%. Après un repos d'une demi-heure au moins, on agite et on filtre sur un creuset de Gooch taré.

On lave la fiole et le précipité avec 250 cc d'eau froide, on sèche, on calcine, on laisse refroidir dans un exsiccateur et on pèse.

Soit P le poids du sulfate de baryum ainsi obtenu.

$(P \times 0{,}343) \times 40 = S$ exprimé en SO^3 pour 1000 cc d'urine
$(P \times 0{,}4206) \times 40 = S$ — SO^4H^2 —
$(P \times 1{,}373) \times 40 = S$ — S —

2° Dosage du soufre, de l'ensemble des sulfates minéraux et des sulfates conjugués aromatiques (Méthode de FOLIN).

Dans une fiole d'Erlenmeyer de 200 à 250 cc de capacité, recouverte d'un verre de montre, on chauffe à une douce ébullition pendant 20 à 30 minutes, 25 cc d'urine additionnée de 20 cc. d'acide chlorhydrique dilué (1 volume d'acide pour 4 volumes d'eau), puis on refroidit sous un courant d'eau. Après refroidissement complet, on dilue avec de l'eau, à environ 150 cc et on précipite l'acide sulfurique par le chlorure de baryum en opérant comme il est indiqué dans le dosage précédent.

On pourra exprimer également en soufre S, en anhydride sulfurique SO^3 ou en acide sulfurique SO^4H^2 le poids de sulfate de baryum obtenu.

3° Dosage du soufre total (Méthode de BENEDICT) (12).

Dans une capsule en porcelaine, on place 25 cc d'urine avec 5 cc d'une solution contenant 25% de nitrate de cuivre pur cristallisé et 5% de chlorate de potassium. On évapore au bain-marie jusqu'à siccité et on chauffe ensuite d'abord à flamme réduite, puis en augmentant peu à peu la chaleur jusqu'à ce que la capsule soit portée au rouge, température que l'on maintient pendant 10 à 15 minutes. Après refroidissement, on ajoute 10 à 20 cc d'acide chlorhydrique à 10% et on chauffe légèrement jusqu'à dissolution complète. On verse le liquide dans une fiole d'Erlenmeyer, on lave la capsule avec de l'eau que l'on verse également dans la fiole, de manière à avoir finalement 100 à 150 cc de liqueur. On procède comme dans les dosages précédents, en employant 25 cc d'une solution de chlorure de baryum à 1/10 pour précipiter l'acide sulfurique. On pourra également exprimer le résultat du dosage en S, en SO^3 ou en SO^4H^2.

Expression des résultats :

Le dosage A donne le soufre des sulfates minéraux.

Le dosage B donne le soufre de l'ensemble des sulfates minéraux et des sulfates conjugués.

Le dosage C donne le soufre total.

La différence B — A donne le soufre des sulfates conjugués.

La différence C — B donne le soufre des composés sulfurés autres que les sulfates minéraux et les sulfates conjugués.

Il sera préférable d'exprimer tous ces résultats en soufre S.

Aucune des nombreuses méthodes, proposées pour le dosage des trois formes de soufre urinaire, n'est à l'abri de la critique. La minéralisation du soufre « neutre », notamment, est délicate à réaliser et toutes les techniques actuelles, étudiées sur des corps purs, amènent des pertes en soufre. Par contre, les techniques par calcination provoquent des erreurs par excès si l'on emploie le gaz d'éclairage (présence de composés sulfurés). On annule cet inconvénient en employant le four électrique ou la lampe de soudeur à la benzine.

Enfin, nous ne conseillons pas la méthode de dosage à la benzidine, pourtant si commode et si précise quand il s'agit des sulfates préformés, pour la raison que le sulfate de benzidine est soluble dans un excès de chlorures et que les proportions d'acide chlorhydrique ci-dessus indiquées pour le dosage des sulfoconjugués, ne peuvent être diminuées.

Préparation et emploi du creuset de Gooch.

Le creuset de Gooch est un creuset de porcelaine dont le fond est perforé. On garnit le creuset d'un filtre d'amiante, puis on fait la tare après l'avoir porté à la même température que celle nécessitée par le dosage et après l'avoir laissé refroidir dans un exsiccateur.

Préparation du filtre d'amiante.

Prendre de l'amiante molle et en longs filaments. la couper en morceaux d'environ 5 millimètres et faire digérer au bain-marie pendant une heure dans une capsule de porcelaine avec de l'acide chlorhydrique concentré. Agiter de temps en temps. Décanter l'acide chlorhydrique. Réunir l'amiante sur un entonnoir de Buchner et laver à l'eau distillée chaude jusqu'à ce que l'eau de lavage ne précipite plus par le nitrate d'argent.

Conserver ces filaments dans de l'eau distillée renfermée dans un flacon propre bouché à l'émeri.

Pour préparer le filtre d'amiante, placer d'abord le creuset entouré d'une bague de caoutchouc dans un entonnoir cylin-

drique adapté à une fiole à filtration dans le vide. Au fond du creuset, placer une couche d'amiante de 1 à 2 millimètres d'épaisseur que l'on comprime légèrement avec une baguette de verre.

Mettre alors des fragments d'amiante en suspension dans de l'eau distillée et verser le contenu dans le creuset en le comprimant légèrement. Lorsque la nouvelle couche atteint environ 1 millimètre d'épaisseur, placer la plaque perforée et la comprimer légèrement avec une baguette de verre.

Verser encore de l'eau renfermant de l'amiante en suspension pour en recouvrir la plaque de porcelaine.

Laver enfin à l'eau distillée jusqu'à ce que celle-ci filtre tout à fait claire sans entraîner de fibrilles d'amiante.

Le creuset, manipulé avec une pince à creuset, est séché à la température voulue, transporté au moyen d'une même pince dans un dessicateur jusqu'à refroidissement et finalement taré.

Méthode Benzidinique

Préparation de la solution de chlorhydrate de benzidine

Benzidine pure.....	40 grs
HCl concentré.....	50 cc
H^2O distillée.....	1000 cc

Mettre la benzidine dans un mortier. Ajouter l'acide peu à peu en malaxant le tout pour faire une pâte. Laisser six heures. Ajouter l'eau distillée, peu à peu, laisser reposer douze heures. Filtrer. On a ainsi la solution mère. La garder dans des bouteilles jaunes. Pour l'employer pour le dosage, faire diluer au 1/10.

Dosage.

Dans une fiole conique on introduit la solution de sulfate à doser (volume contenant 0 gr. 01 à 0,1 SO^4H^2) et on ajoute 100 cc de solution diluée de chlorhydrate benzidine. On agite et laisse reposer 20 à 30 minutes. On filtre sur un filtre sans plis, puis on lave le précipité avec un mélange à portions égales d'alcool-éther neutralisé avec NaOH N/10 en ayant soin de laver la fiole conique à l'alcool-éther et de verser les solutions

de lavage sur le filtre. Les dernières liqueurs de lavage ne doivent plus contenir d'acide HCl. On verse dans un tube à essai 1 à 2 cc de NO^3Ag, on fait couler l'alcool éther filtré ; il ne doit pas donner de voile blanc à la limite de séparation des deux liquides.

On introduit le filtre et son précipité dans une fiole conique. On met 50-100 cc d'eau distillée, rigoureusement neutre, on agite et on dose l'acidité avec NaOH N/10 en présence de phénolphtaléine comme indicateur, on agite fortement après chaque addition de NaOH N/10.

On peut faire le dosage avec la soude à chaud, la dissolution du sulfate de benzidine se faisant mieux, mais le dosage exige que la solution de soude décinormale soit neutre à chaud en présence de phénolphtaléine. Le nombre de cc de soude écoulé multiplié par 0,0069 correspond à la quantité de sulfate dans la prise d'essai, en grammes.

Microdosage du soufre des sulfates purs.

A. — Le principe du microdosage du soufre effectué par Mme B. Pohorecka-Lelez (13) repose sur la titration du sulfate de benzidine appliqué aux conditions du microdosage, méthode de Fiske surtout pour la filtration.

L'auteur emploie un tube de Pyrex de 20 cm de hauteur et 2,5 cm de diamètre avec microtube à filtrer en verre de 6 cm de hauteur sur 1 cm. de diamètre. La plaque filtrante placée à la hauteur de 3 cm est fait de pores de 35-40 mil. de diamètre moyen.

B. — Après avoir lavé le précipité, on introduit le petit tube avec la plaque de verre dans le tube à essai de Pyrex pour le bien couvrir ensuite avec de l'eau distillée à laquelle on ajoute deux gouttes de solution aqueuse du rouge de phénol à 0,05%. Après ébullition titrée à chaud jusqu'à décoloration rose à l'aide de la NaOH N/50 qu'on verse au moyen d'une microburette bien calibrée. On chauffe de nouveau le tube de Pyrex, en agitant soigneusement le petit tube à filtrer, noyé dans le liquide pour détacher de la plaque de verre et dissoudre dans l'eau bouillante les dernières parcelles du sulfate de benzidine : le liquide d'abord rouge se décolore. On y ajoute de la soude jusqu'à coloration rouge et on répète alternativement l'ébullition et la titration du liquide jusqu'à

coloration rose stable à l'ébullition. Le nombre de cc de NaOH N/50, plus le coefficient 0,32, donne la quantité de soufre dans le liquide examiné.

C. — L'auteur a appliqué ce microdosage du soufre aux urines et au sang. Le sulfate de benzidine absorbe les phosphates et se dissout partiellement dans les chlorures des urines. On a séparé les phosphates et dilué la concentration des chlorures d'après le procédé de C.H. Fiske (14). Cette méthode nécessite seulement 0 cc 5 à 1 cc d'urine et donne des résultats concordants à ceux de la méthode micro-pondérale au SO^4Ba.

Sulfates		Ether-Sulfates		
SO^4Ba	Sulf. benzid.	Sulfate	S. oxydé total	Ether sulfate
		a	b	b-a
0.1145	0.121	0.1145	0.149	0.0354
0.935	0.934	0.1120	0.1472	0.0352

D. — **Conclusion**

1° Le microdosage volumétrique des sulfates purs par la méthode benzidinique est remarquablement rigoureux et dépasse même la précision des microdosages effectués par la méthode pondérale à l'état de sulfate Ba.

2° Le microdosage des sulfates par la méthode benzidinique devient en plus une méthode rapide à cause de sa simplicité, à condition d'employer pour la filtration, l'ébullition et la titration du précipité de sulfate de benzidine recueilli, un petit filtre à plaque de verre poreux.

3° Le microdosage volumétrique par la méthode benzidinique du soufre des sulfates dans les liquides biologiques, les albumines, à chaud à l'aide de l'acide acétique N/100, donne des résultats identiques avec la méthode pondérale barytique et peut être effectué sur de petites quantités de liquide (0 cc 5 d'urine ou 5 cc de sérum sanguin).

4° Le microdosage volumétrique peut être appliqué à la détermination du soufre total dans les liquides biologiques. Ces liqueurs évaporées à sec, sont fondues au nitrate de Cu et de CLO^3K (Bénédict) ou bien oxydées par voie humide à l'aide de l'acide NO^3H concentré et du périhydrol. La voie humide est particulièrement appropriée aux microdosages en série et donne les mêmes résultats que la fusion au péroxyde de Na et le dosage pondéral à la microbalance.

5° Le dosage microvolumétrique du soufre sous ses différentes formes dans les liquides biologiques (sulfates, éther-sulfates, soufre neutre), devient particulièrement précieux pour l'étude du fonctionnement rénal et pour le métabolisme du soufre à cause de sa simplicité, de sa précision et de sa rapidité.

Une intéressante application de la méthode benzidinique pour le dosage du soufre dans les glandes surrénales, le foie, les os, a fait l'objet de travaux de MM. Lesure et Dunez (16).

En 1929, ces deux auteurs ont publié un complément de la technique de dosage du soufre dans le sang et les produits organiques. Mais nous croyons devoir indiquer les conclusions indiquées par ces deux auteurs eux-mêmes.

« Pour conclure, nous pensons que si la méthode de dosage pondérale du soufre, telle que l'ont pratiquée la plupart des auteurs : Mohr, Schulz, Kouschegg, Bénédict, Denis, Modrakowski, Osborn et Folin, Pringshein, Abderhalden et Funk, Robinson, Stokholm et Koch, Doumer et Simozin, Sherman, Wolf et Œsterberg, Le Clerc et Dubois, Osborn et Parr, Avery Salkowski, Silberberger et Lengyel, et plus récemment encore Lematte et ses collaborateurs : Kahane et Boinot, M. May et dans les végétaux M. Hinglais (15).

« Si cette méthode reste la méthode de choix dans les laboratoires de recherches, la technique volumétrique que nous venons d'exposer présente, au moins en ce qui concerne le sang, certains avantages dans la pratique courante, notamment dans les laboratoires où l'on se trouve amené à effectuer simultanément les dosages nombreux et variés que réclame la clinique. Il faut tenir compte, bien entendu, des conditions d'expérience qui présentent une importance particulière, car nous avons pu constater qu'en changeant la concentration de la liqueur benzidinique, son acidité, les proportions employées dans le dosage, on obtenait des résultats quelque peu différents. Cette réserve

faite, la méthode, à notre avis présente une approximation très suffisante, la différence avec le chiffre théorique ne dépasse pas 1 à 2,5% et la quantité du sérum à utiliser pouvant n'être que de 5 cc ».

Le dosage du soufre dans le sang et dans les produits organiques par Lesure et Dunez (16), est simplement le complément de la technique de dosage du soufre dans le sang et les produits organiques exposés dans le *Bulletin Soc. Chim. Biol.* 1928.

Cette technique, elle-même, reproduit dans ses grandes lignes la méthode de microdosage proposée par Mme Pohorecka (13).

Différentes remarques :

Sang. — 1° *Désalbumination.*

La désalbumination est parfois délicate quand le caillot se sépare mal et que le sérum est plus ou moins chargé d'hémoglobine. Il est nécessaire de répéter une deuxième fois le traitement à l'acide acétique et d'ajouter quelques gouttes d'acide trichloracétique.

2° *Précipitation par la benzidine.*

La dissolution de benzidine se faisait assez difficilement et les solutions se conservaient mal.

La précipitation des sulfates avec ces liqueurs se faisait mal. Les auteurs proposent donc la solution suivante qui semble donner entière satisfaction et se conserve très bien plusieurs mois :

Quatre grammes de chlorhydrate de benzidine sont introduits dans un matras avec 80 cc d'eau distillée environ. On fait dissoudre à une douce chaleur, on ajoute 4 grammes (ou 3 cc 5) d'HCl liquide de densité 1,19 et l'on complète avec de l'eau distillée.

3° *Addition d'acétone.*

L'addition d'acétone d'après les deux auteurs ne semble pas indispensable ; mais elle paraît être cependant le liquide de choix pour le lavage des précipités des sulfates de benzidine.

Si l'on emploie effectivement l'eau distillée, on trouve des

chiffres d'autant plus faibles que le volume d'eau employé est plus grand.

Cependant, avant d'employer l'acétone, il faudra s'assurer qu'elle ne contient aucune trace de soufre, se méfier de l'acidité et ne pas utiliser l'acétone pure. Il est préférable d'employer l'acétone à 95% et à 80%.

Chatron, en effet, a remarqué que quelques cc d'acétone pure ajoutée à quelques gouttes donnaient un précipité. Ce précipité constitué par du chlorhydrate de benzidine, hydrolysé, donnerait HCl comme sulfate de benzidine, dans les mêmes conditions libère SO^4H^2 et entraînerait une erreur par excès (17).

Cette erreur peut se produire si après avoir versé sur le filtre, le précipité de sulfate de benzidine, on laisse quelques gouttes de liqueur benzidinique. L'addition d'acétone pour le lavage détermine la formation d'un précipité.

Il suffit d'une petite quantité d'eau pour empêcher la formation de ce précipité, d'où l'utilisation de l'acétone à 95°.

On peut encore éviter cette précipitation secondaire en ajoutant à la solution de sulfate à doser la solution benzidinique et l'acétone (voir méthode des deux auteurs).

Autres causes d'erreurs.

L'eau distillée doit avoir un pH rigoureusement neutre..

Les filtres présentant une légère acidité peuvent être une cause d'erreur. On peut donc employer un filtre Buchner en utilisant un double filtre sans cendres. On fait tomber lentement au milieu le liquide à filtrer et l'on filtre ainsi sous pression réduite ; R. Fabre a même eu recours à la centrifugation.

TROISIEME PARTIE

Plusieurs études théoriques au cours des dix dernières années sont venues s'ajouter aux travaux que nous venons de résumer brièvement. Il semble que les auteurs aient fini par se faire une opinion sur l'opportunité qu'il y a de choisir telle ou telle méthode.

Pour le moment les dosages consacrés à la chimie biologique mettent en jeu la méthode benzidinique (voir page 46) et la méthode néphélémétrique, mais ne font plus guère appel aux dosages et aux microdosages pondéraux en raison de la difficulté technique de leur réalisation.

MÉTHODE NEPHELEMETRIQUE

L'apparition d'un léger louche sous l'influence des sels de baryum a permis aux chercheurs d'appliquer une nouvelle méthode au dosage du soufre, au moyen de laquelle, il est possible de travailler rapidement et avec précision sur de très faibles quantités de l'ordre de quelques milligrammes.

Les auteurs dont nous allons parler maintenant Obermer et Milton (18), avaient à leur disposition pour effectuer leurs mesures un photomètre de Vernes (*a*). Nous ne disposions pas de cet appareil et nous avons fait nos mesures avec un photocolorimètre à cellule photoélectrique unique de Hellige (*b*).

(*a*) Photomètre Vernes, Briq et Yvon. — Fobin et Yvon, constructeurs à Paris

(*b*) Photocolorimètre de Hellige, constructeur à Fribourg-en-B., Allemagne.

Cet appareil comporte une lampe alimentée directement par le courant de la ville enfermée dans une boîte close et munie d'un réfrigérant à ailettes. Cette lampe, en verre blanc dépoli envoie au travers de fenêtres également garnies de verre dépoli, un faisceau lumineux assez large d'environ 5 cm de diamètre et qui peut couvrir toute la surface d'une cellule photoélectrique ; des diaphragmes convenablement placés limitent le faisceau à 2 cm de diamètre environ, faisceau qui peut traverser une cuve de verre à faces parallèles destinée à recevoir la solution ; des rainures ménagées dans la monture de l'appareil permettent d'y glisser des verres de couleur destinés à des opérations en lumières très sensiblement monochromatiques : rouge, jaune, verte et violette.

Le flux lumineux qui tombe sur la cellule subit l'absorption du liquide contenu dans la cuve et passe de la valeur I_0 à la valeur I.

La cellule photoélectrique présente à ses bornes une différence de potentiel ; cette différence de potentiel est évaluée en unités arbitraires au moyen d'un millivomètre ; deux rhéostats, l'un pour le réglage approché, l'autre pour le réglage fin, permettent de fixer, tout d'abord, l'aiguille dans une certaine position, 50 ou 100, selon l'éclairement et la couleur que l'on choisit. La cellule au sélénium présente une courbe de sensibilité qui se rapproche grossièrement d'une branche de parabole. Si l'on porte en abscisse les lumens et en ordonnées les millivolts, la courbe caractéristique monte d'abord assez vite, puis elle s'infléchit de telle sorte que pour un éclairage suffisamment intense et pour des intervalles assez petits, la courbe peut être assimilable à un élément de droite.

En gros, les conditions expérimentales étant ainsi réalisées, il y a proportionnalité entre l'éclairement de la cellule photoélectrique et la différence de potentiel qu'elle fournit à ses bornes.

Le dispositif comporte une glissière permettant de substituer très rapidement une cuve à une autre cuve et de comparer, par conséquent, une solution étalon avec une solution connue de même nature.

Dans les mesures que nous avons faites en partant d'une liqueur primitivement transparente, nous n'avons pas fait de comparaison par rapport à une solution type, nous nous sommes contenté de mesurer successivement la déviation de l'aiguille

du millivolmètre au fur et à mesure que la solution qui passait dans la cuve de 1 cm d'épaisseur, était de plus en plus chargée en acide sulfurique. Nous avons admis que dans ces conditions : lumière blanche très vive ou lumière jaune (jaune du sodium), les indications du millivolmètre permettaient de former le rapport D/Do identique au rapport I/Io des intensités lumineuses à l'entrée et à la sortie de la cuve absorbante. Certaines causes d'erreurs, telles que de légères fluctuations du courant électrique pouvaient entraîner des écarts entre les mesures. Il était, en somme, assez facile d'éliminer ces erreurs, soit en répétant plusieurs fois la même mesure et en superposant les graphiques, soit en corrigeant par un tracé convenable de la courbe, les légères erreurs expérimentales attachées à chaque point.

La méthode met en jeu l'absorption de la lumière par de très fines particules en suspension aqueuse. Les essais, tant au point de vue théorique qu'au point de vue expérimental, ont provoqué des discussions sur les applications numériques qui s'en suivent d'une part, sur l'opportunité de précipiter le sulfate de baryum dans des milieux divers, d'autre part. Nous exposerons la position du problème dans la quatrième partie. Résumons ici la méthode photométrique et la technique imaginée par les différents auteurs.

Un article très complet dû à MM. Obermer et Milton, contient une revue générale de toutes les méthodes qui ont été employées pour le dosage du soufre. On y retrouvera le rappel et la description des méthodes analytiques générales, des méthodes colorimétriques directes ou indirectes et qui ne nous ont pas paru présenter un intérêt assez grand pour être développées dans le présent travail. Le lecteur qui s'intéresse à la bibliographie complète de la question, voudra bien s'y rapporter à l'article précité.

En déterminant les composés contenant du soufre non protéinique dans le sang, Denis et Reed (19) ont imaginé une technique tout à fait intéressante au point de vue théorique, car elle introduit pour la première fois à notre connaissance, un *colloïde protecteur* à côté du précipité opalescent de sulfate de baryum. Cette manière d'opérer présente l'avantage incontestable de donner une grande stabilité à la suspension de sulfate de baryum. Une précipitation à froid et en solution concentrée donne à SO^4Ba la texture d'un précipité colloïdal. Il n'en

reste pas moins que dans la solution diluée, le précipité se rassemble assez vite pour que les mesures deviennent difficiles. Pour éviter cette sédimentation, il faut lier les fines particules du sulfate de baryum aux micelles d'un colloïde protecteur. Denis et Reed ont imaginé d'employer la solution à 5% de gélatine bien exempte de soufre additionnée d'acide chlorhydrique centinormal (pH voisin de 2) et additionnée de chlorure de sodium. Dans la solution précipitante de $BaCl^2$, on élimine la moindre trace de sulfate de baryum en ajoutant à froid de l'ovalbumine que l'on coagule par la chaleur, ce qui rassemble la moindre parcelle de substances solides. La solution conservée au thymol après filtration chaude est mélangée à parties égales avec une solution de chlorure de baryum à 1%. La précipitation en sulfate, en particulier dans le cas de l'urine, comporte tout d'abord l'addition de NaCl, HCl N/10 et d'eau, ce qui porte le volume de 1 à 8 cc. On y ajoute 2 cc du mélange précédent : chlorure de baryum gélatiné et au bout de trente minutes on fait la mesure de l'opacité au photomètre.

La courbe d'étalonnage que l'on obtient avec des concentrations de sulfate variable de 0,05 à 0,25 gr. % en SO^3 et dont on prend 1 cc, doit servir de base aux mesures ultérieures. Nous verrons dans la quatrième partie que cette technique est parfaitement conforme aux données théoriques.

En appliquant la méthode de Denis et Reed, Obermer et Milton ont observé des écarts par rapport aux dosages exécutés par la méthode de Folin, que nous avons exposée précédemment ; ils ont observé que la partie ionisable des sulfates urinaires donne des résultats très élevés ; ils se sont proposés de rechercher toutes les conditions qui peuvent modifier la précipitation du sulfate de baruym en présence de la gélatine.

Voici le résumé de leurs observations : si l'on ajoute lentement goutte à goutte ou rapidement le chlorure de baryum gélatiné dans la solution de sulfate, on observe que l'addition lente donne des particules plus grosses qui se déposent plus rapidement, il serait donc préférable de procéder par une addition rapide qui donne une suspension plus simple et une division plus élevée.

Une augmentation de l'acidité en HCl est sans grand effet sur la densité optique avec cette petite remarque toutefois que d'après le graphique donné par l'auteur c'est la concentration HCl N/100 qui donnera la meilleure proportionnalité

(courbe presque rectiligne) entre la densité optique d'une part, et la concentration SO^3, d'autre part. La vitesse de sédimentation des particules ne fut pas sensiblement accélérée.

Dans le cas de l'addition d'électrolytes tels que les phosphates d'ammoniaque, le chlorhydrate d'ammoniaque, les chlorures de sodium et de potassium, dans la proportion de 1% dans HCl normal, les écarts sont, de plus en plus grands si l'on opère en solution HCl N/10 ou N/100 et toujours on arrive à cette conclusion que si la solution est assez riche en HCl, les phosphates présents dans l'urine ne sont pas gênants.

Des substances non électrolytes, telle que l'urée, la créatinine ont été également étudiées. Les écarts sont très grands en ce qui concerne les peptones. Au contraire, par addition de l'urée et de la créatinine, les mesures restent de l'ordre de grandeur de celles étudiées précédemment. Afin de se mettre à l'abri de l'influence très grande des matières protéiques ainsi mise en évidence, les auteurs ont pensé qu'il serait bon de produire une précipitation dans les milieux largement chargés de peptones, c'est pourquoi ils ont employé la peptone au lieu de la solution de gélatine et ont comparé la précipitation avec des solutions sulfuriques ordinaires.

L'effet de la peptone a été d'augmenter la densité optique. Les solutions sont moins simples et les auteurs conviennent qu'il suffit d'essayer d'éliminer l'effet des protéides par un grand excès de peptones.

Des purifications par l'absorption avec milieu de charbon à froid, de kaolin, de charbon acide à chaud, en présence de sulfate d'ammoniaque, de sulfate de sodium, de charbon acide à froid, ont démontré que si les charbons acides fixent bien les proteines, ils peuvent être dangereux en ce qui concerne les dosages de sulfate en raison de leur acidité qui paraît produire une hydrolyse partielle des dérivés sulfo-conjugués.

En employant comme appareil de mesure le photomètre de Vernes, les auteurs arrivent à cette conclusion que la grosseur des particules ne paraît guère différer de celle que l'on obtiendrait avec une solution de chlorure de baryum. La courbe d'étalonnage de la densité pratiquée en fonction de la concentration d'un sulfate est variable d'un jour à l'autre et les auteurs admettent que si la forme de la courbe reste constante, sa place peut varier sous l'influence de la moindre cause et qu'il est donc par là nécessaire de reproduire cette

courbe d'étalonnage au moment même du dosage des sulfates. La méthode néphélémétrique exige donc toute une série d'étalons et chaque étalon doit se choisir selon la densité optique de la solution inconnue.

Pour augmenter l'effet des colloïdes protecteurs, les auteurs ont employé une solution de gomme Ghatti préparée selon la méthode de Folin. Ils ont suivi avec beaucoup de soin et en fournissant des graphiques, les effets produits par la concentration, de la gomme Ghatti, la durée du chauffage, la concentration en chlorure de baryum et ont recherché en définitive tous les facteurs qui interviennent dans la formation des complexes : chlorures de baryum plus protides, tels que : le pH, la dilution, le mode de mélange, la durée de la précipitation, la présence des électrolytes. Ayant ainsi discuté le point le plus important, ils ont mis sur pied la méthode de détermination photométrique des sulfates dont nous allons donner d'après leur mémoire, le mode opératoire complet :

Nous résumons la technique complète pour la commodité des travailleurs désireux d'employer notre méthode par l'analyse de toutes fractions du soufre urinaire :

Solutions :

1. Chlorure de sodium à 1 p. 100.
2. Chlorure de sodium à 1,25 p. 100.
3. Charbon animal exempt de soufre.
4. Acide chlorhydrique N.
5. Acide chlorhydrique concentré.
6. Soude caustique N.
7. Acide nitrique concentré.
8. Acide perchlorique à 20 p. 100.
9. Solution de peptone-chlorure de baryum, préparée comme suit :
   - Dissoudre 20 mg. de peptone dans 5 cm³ de chlorure de baryum à 1 p. 100 tamponné à pH 6,0 avec CLH N/50 et OHNa N/25.
   - Ajouter 1 mg. de chlorure de sodium et compléter à 10 cm³.
   - Chauffer au bain-marie bouillant 10 minutes et ajouter quelques gouttes de chloroforme.
   - Refroidir et déposer à la glacière.
10. Solution de gomme Ghatti préparée comme suit :
    - Remplir un récipient de 500 cm³ avec de l'eau et suspendre juste au-dessous de la surface 10 g. de gomme Ghatti dans un petit panier de fer galvanisé.

Laisser reposer pendant la nuit (mais pas 24 heures), et alors enlever le panier avec la substance non dissoute. La solution limpide peut être employée sans autre purification.

11. Mélange diluant, préparé comme suit :

Mélanger 50 cm^3 de solution avec 200 cm^3 d'eau et 250 cm^3 d'une solution de chlorure de baryum à 2 p. 100.

Chauffer jusqu'à ébullition pour enlever CO^2 et ajuster la solution à pH 6,0.

12. Solution précipitante :

Celle-ci est préparée préalablement en ajoutant 1 cm^3 de la solution 9 à 50 cm^3 de la solution 11.

13. Chlorure de sodium à 10 p. 100.

Préparation de la courbe rapportant la densité optique à la concentration

Lorsqu'on prépare n'importe quel constituant d'un réactif précipitant, une courbe relative au rapport de la densité optique concentration doit être rétablie. On opère comme suit :

Introduire dans une série de tubes, 1 cm^3 des solutions de sulfate titrées, de concentrations 0,025, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 et 0,25 p. 100 de SO^3. Ajouter à chaque tube 4 cm^3 de chlorure de baryum à 1,25 p. 100 et 3 cm^3 de CLH N. Après avoir mélangé, ajouter vivement 2 cm^3 du réactif précipitant. Au bout de 30 minutes, renverser pour mélanger, et lire la densité optique au photomètre. Soustraire de ces chiffres ceux donnés par un témoin où l'on a remplacé la solution de sulfate par l'eau distillée. Ensuite construire le graphique des rapports

$$\frac{\text{densité optique}}{\text{concentration}} \text{ de } SO^3.$$

1. *Sulfates inorganiques dans l'urine*

Technique :

On verse 1 cm^3,5 d'urine dans un tube à essai avec 6 cm^3 de chlorure de sodium à 1 p. 100, 4 cm^3,5 de CLH N et on ajoute une pincée de charbon animal. Le tube est fortement agité pendant 1 minute, mis au repos pour 10 minutes, et filtré deux fois à travers le même papier filtre. 8 cm^3 du filtrat sont introduits dans un tube à essai et 2 cm^3 du réactif précipitant de peptone sont ajoutés. Après 30 minutes de repos, la diminution néphélémétrique est mesurée au photomètre.

Calcul :

La différence entre le chiffre donné par la solution d'urine et le chiffre du témoin est lue sur le graphique en SO^3 exprimé en p. 100.

2. *Sulfates hydrolysables par l'acide*

Technique :

Faire bouillir doucement 5 cm^3 d'urine avec 1 cm^3 de CLH concentré pendant 5 minutes. Refroidir, diluer quantitativement à 25 cm^3 et filtrer deux fois à travers le même papier filtre. Titrer 5 cm^3 du filtrat avec de la soude N pour déterminer l'acidité. Verser encore 5 cm^3 du filtrat dans un tube à essai ; ajouter CLH N jusqu'à ce que la solution soit de 3 cm^3 N par rapport à CLH et ajouter alors 0 cm^3,5 de CLNa à 10 p. 100. Compléter avec de l'eau à 8 cm^3. Ajouter 2 cm^3 du réactif précipitant. La détermination néphélémétrique est faite au photomètre après 30 minutes.

3. *Soufre total dans l'urine*

Technique :

Introduire 1 cm^3 d'urine dans un tube à essai en verre résistant. Ajouter 0 cm^3,5 de CLNa à 10 p. 100 et 1 cm^3 de NO^3H. Chauffer doucement jusqu'à ce que la plus grande partie de l'eau soit évaporée, et ensuite plus fortement jusqu'à la formation de fumées brunes. Ajouter alors 1 cm^3 d'acide perchlorique, baisser la flamme, et continuer à chauffer lentement pour que l'acide perchlorique se condense sur les bords du tube. L'oxydation est complète quand le liquide devient blanc limpide. La flamme est alors augmentée et l'excès d'acide perchlorique est chassé. Le tube est refroidi et le résidu est dissous dans CLH concentré additionné de quelques gouttes d'eau. Cette solution est évaporée à sec avec précaution pour éviter la projection à la fin de la réaction. Lorsque le tube est sec, chauffer fortement pour éliminer les fumées nitriques. Après refroidissement le résidu est dissous dans 3 cm^3 de CLH N et 5 cm^3 d'eau distillée sont ajoutés. On ajoute 2 cm^3 du réactif précipitant. La détermination néphélémétrique est faite au photomètre après 30 minutes.

Calcul :

Du chiffre ainsi obtenu on déduit le chiffre donné par un témoin d'eau distillée. On lit le résultat directement sur la courbe en grammes p. 100 de SO^3. Soufre total — sulfates totaux = soufre dit neutre.

QUATRIEME PARTIE

POSITION DU PROBLÈME

Les résumés que nous venons de donner plus haut des travaux antérieurs sur les dosages cliniques des trois formes de l'acide sulfurique dans l'urine et dans le sang, tournent autour de la précipitation de l'ion SO^4, soit en SO^4Ba, soit dans le complexe benzidinique.

La précipitation en SO^4Ba, accompagnée de l'isolement et de la pesée du précipité, est une méthode parfaite, mais tellement longue et délicate qu'elle ne peut pas faire l'objet d'une méthode systématique. Le dosage par la méthode volumétrique, benzidinique, quoique beaucoup plus rapide est, par son caractère de méthode volumétrique, plus accessible à des techniciens peu habitués aux méthodes des microdosages pondéraux ; par contre, elle présente l'inconvénient d'être déjà assez longue et sujette à certaines causes d'erreurs.

Des méthodes approchées comme celle de Bosc sont peu recommandables, car elles ne donnent pas assez de précision, étant donné la relativement faible quantité de soufre contenu, par exemple, à l'état de complexe. Il est certain que pour avancer nos connaissances dans l'élimination du soufre sous ces trois formes, ions libres, phényl-sulfones, et soufre complexe, il serait trés utile de mettre à la disposition des chimistes, des biologistes des cliniciens une méthode rapide et sûre de dosage. Il faudrait pouvoir disposer d'une technique permettant de réaliser 200 dosages de précision par jour.

Pour réaliser ce projet nous devons faire appel à la méthode néphélémétrique basée sur la précipitation de l'ion SO^4 par le baryum en SO^4Ba (que ce soit l'ion SO^4 libre ou minéralisé par une opération préliminaire). Le nœud du problème est de précipiter SO^4Ba sous forme d'un précipité colloïdal aussi fixe et aussi stable que possible. Or on sait que l'état microcristallin du précipité dépend des conditions de précipitation ; d'autre part SO^4Ba étant très dense le précipité même à l'état colloïdal, a tendance à se rassembler assez rapidement et d'une manière gênante pour des mesures néphélémétriques.

C'est une raison pour laquelle plusieurs auteurs ont superposé au précipité SO^4Ba, un colloïde protecteur destiné à stabiliser la suspension.

En deux mots, le but à atteindre est le suivant : mettre sur pied une technique de précipitation donnant une application simple de la loi de l'absorption de Beer Lambert sous la forme d'une suspension colloïdale apparemment simple et formée de grains aussi fins que possible. La préparation d'une telle suspension devra être réalisée en quelques minutes et permettre des mesures assez précises pour des applications portant sur des dizaines ou quelques centaines de microgrammes.

Une telle méthode devra, en outre, se contenter d'une très petite quantité d'échantillons : quelques centimètres cubes.

On conçoit que dans ces conditions une pareille méthode permettra de suivre pas à pas l'élimination du soufre et permettra certainement de découvrir des faits nouveaux ou la base de mécanisme d'élimination sur lesquels on est encore très mal renseigné.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE DE LA PRÉCIPITATION EN SO^4H^2

Pour obtenir le précipité microcristallin exigé dans le dosage pondéral destiné aux lavages et calcinations, les chimistes ont établi les conditions que l'on doit remplir pour que l'opération puisse être menée à bonne fin. Il faut faire agir sur une solution contenant de l'ion SO^4 prise étendue et au voisinage de l'ébullition, la solution précipitante contenant l'ion Ba également en solution étendue et au voisinage de l'ébullition. Si ces conditions ne sont pas remplies ou même, au contraire, si on choisit les conditions opposées, c'est-à-dire, précipitation à froid et en solution concentrée, on obtient des précipités qu'on ne peut plus filtrer, SO^4Ba étant en particules très fines et la plupart du temps colloïdales.

Pour la question qui nous occupe ici, les solutions SO^4 d'origine urinaire ou sanguine, sont des solutions très étendues par conséquent, la condition précédente des solutions concentrées nous échappe et nous ne pouvons faire autre chose que de produire la précipitation à froid.

Les chimistes ont également montré qu'au cours de ces réactions le précipité de SO^4Ba fixe énergiquement par adsorption des ions basiques et acides tels que :

Bases : sels ferriques aluminium, chrome, potassium, ammonium.

Acides : chlorates, chromates, nitrates.

Ces ions, quelquefois très énergiquement adsorbés, modifient considérablement le poids du précipité et introduisent ainsi des causes d'erreur par excès.

Pour la question qui nous occupe ici parmi tous ces ions supplémentaires, seul interviendrait l'ion ammonium et très rarement des ions tels que le perchlorate et le nitrate. La question peut se poser en ce qui concerne la technique néphélémétrique de savoir si ces ions auront simplement pour effet de rendre les particules de la suspension plus lourdes ou bien si leur adsorption aura une action sur la lumière.

Par conséquent, un certain nombre de substances dont les chimistes se sont peu souciés ; tels que les nitrates, les phosphates, l'urée, l'acide urique, etc..., pourront comme les acides précédemment étudiés, se fixer sur les particules de SO^4Ba.

Comme nous l'avons fait observer déjà, la quantité d'ions SO^4 dans les urines est assez faible : un volume de l'ordre de quelques cc en contiendra quelques mgr. et un volume de l'ordre de la goutte, c'est-à-dire vingt fois plus petit, en contiendra quelques dizaines de microgrammes. Or, la solubilité du sulfate de baryum, quoique très faible, est loin d'être négligeable, les tables indiquent 1 gr. pour 436 litres d'eau, c'est-à-dire, que la solubilité s'élève à 2 mgr. 3 par litre et à 2,3 γ par cc.

Nous reviendrons sur cette question en discutant la précision des mesures néphélémétriques.

CHAPITRE II

COLLOÏDES PROTECTEURS

L'idée d'ajouter dans la solution où se font les précipitations une substance colloïdale, en principe indifférente à cette précipitation même, répond à la nécessité particulièrement pressante pour la molécule SO^4Ba d'empêcher que la solution, trouble colloïdale, puisse déposer d'une manière sensible pendant la durée des mesures. Or, le fait de mettre un colloïde quel qu'il soit en présence d'une solution ionique, entraîne immédiatement le partage entre les ions, certains venant s'adsorber sur le colloïde, d'autres, au contraire, restant libres dans la solution.

La gélatine ayant été mise en jeu dans la méthode de Denis et Reed (19), nous allons parler brièvement de l'adsorption des ions par les colloïdes. La captation des ions a été étudiée d'une manière classique par Loeb. En général, la charge électrique des colloïdes en suspension dans l'eau, est négative par adsorption d'ions OH. Loeb a démontré par des mesures de Ph que l'addition progressive de gros ions tels que $FeCy^6$, SO^4, etc..., augmente progressivement à partir de très faibles concentrations pour passer par un maximum au voisinage de la concentration 1/1000 molaire ; la charge électrique qui est ainsi augmentée, diminue ensuite à mesure que la fixation des ions augmente et tend, peu à peu, vers la charge nulle.

Il y a donc lieu de discuter s'il est plus important de mettre

la gélatine dans la solution sulfurique ou dans la solution barytique.

On sait, d'autre part, que les substances colloïdales comme la gélatine, présentent des propriétés amphotères, voient leur charge changer de signe pour certaines valeurs bien déterminées du Ph. Ce sont les points isoélectriques.

Pour la gélatine, on en connaît deux : Ph 4,7 trouvé par Loeb et Ph 7,8 trouvé par Wilson et Kern. On se rendra compte de cet effet en citant l'exemple de la gélatine et son coefficient de gonflement dans la solution aqueuse acide et alcaline et représenté dans le graphique suivant :

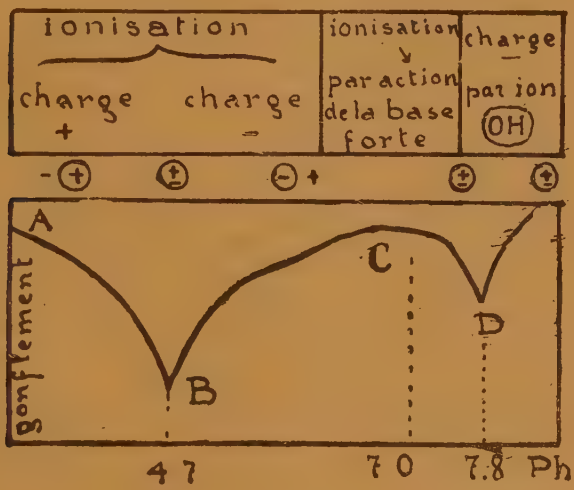

Figure 1

Il y aura donc lieu de bien préciser les conditions dans lesquelles il faudra se placer pour obtenir une suspension colloïdale dans laquelle le colloïde protecteur ne devra pas intervenir par lui-même, en ajoutant à l'opalescence d'un sel tel que SO^4Ba, une augmentation intempestive de l'opalescence par une floculation partielle ou le gonflement des micelles. En ce qui concerne la gélatine, le tableau précédent montre qu'il serait avantageux de travailler dans les conditions de la neutralité (ph 7) ou bien encore si l'on veut éviter, à partir du point C de la courbe et par l'adsorption de certains ions, le basculement

de l'état ionique de la gélatine, soit du côté du floculat acide (B), soit du côté du floculat alcalin (D), il paraît, au contraire, être plus avantageux de se placer dans des régions nettement acides ou nettement alcalines très éloignées du Ph de floculation et où la gélatine n'interviendrait sûrement pas.

Le cas de la gélatine doit, d'ailleurs, être généralisé à tous les colloïdes que l'on pourra chercher à mettre en jeu dans les solutions où ils interviendront comme colloïdes protecteurs.

CHAPITRE III

FORMULE GÉNÉRALE DE L'ABSORPTION DE LA LUMIÈRE

L'absorption de la lumière par un milieu coloré ou trouble par des particules extrêmement petites est régie par la loi de Beer Lambert.

$$I = I_0 \, e^{-Kcl}$$

$$\text{ou } \operatorname{colog} \frac{I}{I_0} = Kcl$$

Les conditions d'application de cette loi simple sont rarement réunies d'une manière générale. Le coefficient d'absorption K dépend de la longueur d'onde de la lumière que l'on emploie. Si l'on songe que la longueur d'onde visible varie de 700 à 4000 $\mathring{U}A$ et que la plupart des molécules n'ont que quelques dizaines d'$\mathring{U}A$ de dimension, on se rend compte que la longueur d'onde de la lumière est beaucoup plus grande (vingt à cent fois), que la dimension des molécules. Quand les particules augmentent de dimension et atteignent l'état submicroscopique, elles ont un diamètre allant d'une fraction de micron à 10 microns la longueur d'onde de la lumière employée devient alors de l'ordre de grandeur des particules absorbantes. Nous allons

voir les modifications qui s'en suivent en ce qui concerne la loi de Beer Lambert. Cette loi cesse d'être simple.

Supposons que nous ayons à faire à des particules colloïdales, ayant fixé par adsorption quelques molécules de SO^4Ba, on est encore dans le cas où la loi de Beer Lambert représente fidèlement le phénomène, si ces particules colloïdales ont des dimensions de l'ordre de 100 UA. Si, au contraire, les charges électriques de ces particules sont profondément modifiées et si les ions absorbés en augmentent les dimensions, les phénomènes deviennent beaucoup plus compliqués et ont fait l'objet d'études extrêmement précises.

Tout d'abord, d'après Boutaric, la diffusion latérale de la lumière absorbée se fait suivant des lois tellement compliquées qu'il n'y a aucune proportionnalité entre le coefficient de diffusion, le coefficient d'absorption et la densité optique du milieu ; si, au contraire, on observe l'absorption de la lumière par transmission, on constate que la loi sans être simple, est justiciable d'une expression qui a été mise en lumière par Cheneveau et Audubert (20) :

$$I = I_0 \, e^{-\frac{KNd}{n\lambda}}$$

relation dans laquelle N est le nombre de particules par cc, d leur diamètre, λ la longueur d'onde de la lumière et n peut prendre des valeurs différentes jusqu'à la valeur maximum 4, quand le diamètre d des particules tend vers 0.

S'il s'agit d'un milieu hétérogène dans lequel les particules ont des diamètres différents, et c'est certainement le cas qui nous occupe ici, l'absorption sera représentée expérimentalement par la loi suivante :

$$\frac{I}{10} = 1 - e^{-B/M\beta}$$

où M représente la concentration, c'est-à-dire, la masse totale des particules ; B et β des coefficients qui ne dépendent que de la nature des grains et la longueur d'onde de la lumière utilisée.

Si le diamètre des particules est compris entre 1 et 12 microns, c'est-à-dire de 2 à 30 fois plus grand que la longueur

d'onde de la lumière employée, la loi qui représente le mieux les résultats expérimentaux a la forme exponentielle que nous venons d'indiquer.

Il serait donc possible d'établir une relation simple et avec quelques précautions une relation linéaire entre la densité optique du milieu trouble et la concentration M de la solution. Il est bon d'insister sur le fait que pour établir une méthode ayant des chances de donner des résultats convenables, il faut satisfaire aux règles suivantes :

1° Opérer par transmission avec une lumière sensiblement monochromatique.

2° Le diamètre des particules ne doit pas dépasser 12 microns.

3° Il serait prudent de ne pas se contenter d'une seule mesure basée sur la connaissance des coefficients (qui entrent dans l'expression ci-dessus), mais que l'on devra s'appuyer sur une courbe expérimentale tracée à l'avance dans les conditions où l'on doit opérer avec des solutions étalonnées.

Cette courbe $= \frac{I}{I_0} = F\ (c)$, c étant la concentration servira de base à toutes les mesures ultérieures.

C'est bien dans ce but et suivant cette méthode qu'en utilisant le photomètre de Vernes, Obermer et Milton (18) ont opéré en ayant soin de construire à l'avance chaque fois, une courbe expérimentale.

CHAPITRE IV

APPLICATIONS LOGARITHMIQUES

Dans le cas où la formule simple de Beer Lambert peut représenter l'absorption par un milieu trouble, il est possible d'effectuer un dosage par une technique simple ne comportant que deux lectures.

Supposons que dans une solution transparente de chlorure de baryum, nous fassions apparaître un trouble par l'addition d'une petite quantité de sulfate, on met cette solution dans une cuve de 1 cm d'épaisseur et on mesure la déviation d'un millivoltmètre qui reçoit le courant débité par une cellule photoélectrique. On sait que dans un tel appareil et à condition que l'éclairement soit assez important, la déviation du millivoltmètre est presque proportionnelle au flux lumineux que la cellule reçoit dans des intervalles pas trop grands de l'échelle du millivoltmètre.

Donnons à la déviation du millivoltmètre la valeur 100 quand la cuve est remplie d'eau ; après avoir produit le précipité qui rend la solution opalescente par l'addition de c grammes d'acide sulfurique, la déviation de l'aiguille diminue, exemple 82. Ajoutons ensuite progressivement une petite quantité de solution sulfurique de façon que la déviation soit au voisinage de 50 sans que toutefois le volume total du liquide vienne à changer d'une manière sensible.

D'après la figure ci-jointe et si nous appelons p grammes

la quantité connue d'acide sulfurique surajouté, nous avons la suite des relations suivantes :

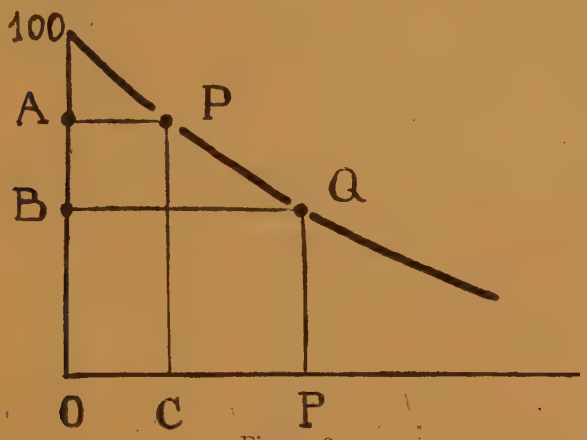

Figure 2

$$\text{En A} \quad \text{colog} \frac{OA}{100} = Kc$$

$$\text{En B} \quad \text{colog} \frac{OA}{100} = K(c + p)$$

C'était la concentration inconnue.

On en déduit :

$$\frac{\text{colog OA}/100}{\text{colog OB}/100} = \frac{c}{c + p}$$

$$c = \frac{\text{colog OA}/100 \times p}{\text{colog OB}/100 - \text{colog OA}/100}$$

et dans le calcul présent :

$$c = \frac{86 \times p}{284 - 86} = 0{,}43 \times p$$

Cette relation nous montre que connaissant l'augmentation p de l'acide sulfurique dans la solution, ayant la possibilité de mesurer des grandeurs proportionnelles aux flux lumineux, issus de la première solution opalescente, puis de la deuxième, il est possible, par un calcul simple de trouver la concentration de la solution inconnue ; ainsi la mesure est très rapide, elle

consiste simplement dans la lecture de deux déviations du millivoltmètre dans un colorimètre à cellule photoélectrique et dans l'addition d'une quantité d'acide sulfurique contenue dans un volume négligeable par rapport à la solution initiale. Cette technique présente le grand avantage de fournir des résultats immédiats, elle remplit donc bien les conditions que nous nous sommes proposés d'obtenir, c'est-à-dire, qu'elle permet le dosage très rapide que l'on pourra multiplier tant qu'on le voudra.

Une seule difficulté se présente : est-il possible d'obtenir une suspension de fines particules de SO^4Ba remplissant les conditions où la loi de Beer Lambert s'applique ; c'est ce que nous allons étudier dans ce qui suit.

CINQUIEME PARTIE

RECHERCHE
DE LA SUSPENSION COLLOIDALE

CHAPITRE PREMIER

SOLUTIONS AQUEUSES

En nous basant sur les études antérieures faites sur la détermination du soufre éliminé par les voies urinaires, nous pouvons adopter les chiffres suivants pour une élimination normale :

Soufre minéral	1,85 gr. 0/00
Soufre minéral + soufre sulfo-conjugué (hydrolyse)	2,95 gr. 0/00
Soufre minéral + soufre sulfo-conjugué + soufre complexe (oxydable)	3,6 gr. 0/00

Considérant qu'une solution SO^4H2 N/100 contient 0,49, c'est-à-dire pratiquement 0,5 gramme d'acide sulfurique par litre.

		Ba Cl^2 équivalent
Soufre total	$\frac{7\,N}{100} = \frac{N}{15}$	8.0/00
Soufre d'hydrolyse	$\frac{6\,N}{100} = \frac{N}{18}$	7.0/00
Soufre direct	$\frac{4\,N}{100} = \frac{N}{25}$	5.0/00

Il s'en suit que les diverses formes du soufre, selon le tableau, correspondent respectivement à des solutions sulfuriques qui sont N/15, N/18 et N/25 auxquelles il correspond des solutions équivalentes de $BaCl^2$ de 8.0/00, 7.0/00 et 5.0/00.

Dans des essais par gouttes, on peut admettre que dans la solution diluée aqueuse, vingt gouttes donnent 1 gramme. Nous partirons dans nos essais, d'une solution de titre moyen SO^4H^2 N/20, qui correspond, par conséquent, à 2,45 mg. d'acide sulfurique par cc, c'est-à-dire à 0,122 mg. ou 122 γ par goutte.

On peut penser que la solubilité du sulfate de baryum interviendra d'une manière fâcheuse pour limiter la précision de l'absorption. D'après ce que nous avons vu précédemment, la solubilité du sulfate de baryum correspond pratiquement à 2,3 γ par cc, c'est-à-dire 0,1 γ par goutte. Une goutte d'acide sulfurique N/20 correspondant à 122 γ, on voit que l'erreur portant sur la solubilité du sulfate de baryum sera pratiquement de $\frac{0,1}{100}$, c'est-à-dire seulement de 1 0/00.

Il en sera de même pour le soufre minéral dont il existe 1,85 gr. 0/00 dans les urines, c'est-à-dire, 1,85 mg. par cc et par goutte 92 γ dans le cas qui nous occupe, l'erreur reste donc de l'ordre de 1 0/00.

Cette erreur s'élève un peu dans le cas des sulfo-conjugués 1,10 gr. par litre, c'est-à-dire, 55 γ par goutte ; l'erreur est donc de 1/500. Dans le cas du soufre complexe, à la dose de 0,66 grammes par litre ou 35 γ par goutte, l'erreur devient de l'ordre de 3/100.

On voit, donc par cette petite discussion que la solubilité du sulfate de baryum n'a pas une importance telle qu'elle puisse gêner dans le microdosage par néphélémétrie, même lorsque nous ferons intervenir le microdosage par gouttes.

Nous nous sommes proposés d'étudier la loi logarithmique dans le cas d'une solution aqueuse de chlorure de baryum chargé d'acide sulfurique par doses croissantes. Nous avons utilisé les solutions d'acide sulfurique $\frac{5\ N}{100}$, $\frac{2.5\ N}{100}$ et $\frac{1,25\ N}{100}$ d'après la technique suivante :

On part d'une solution de chlorure de baryum à 12 0/00 ; c'est-à-dire une solution pratiquement déci-équivalente (masse

moléculaire de $BaCl^2$: 244, solution équivalente 122 grammes par litre, solution déci-équivalente 12,2 par litre). On met cette solution dans la cuvette du photomètre à cellule photo-électrique et on lit la division initiale ; puis on fait tomber, goutte à goutte la solution sulfurique en lisant chaque fois la division à l'échelle. Pour chacune de ces trois solutions, les résultats sont portés dans les trois tableaux suivants où la première colonne indique le nombre de gouttes, la deuxième la quantité d'acide sulfurique ajouté en mg. et la troisième la division lue sur le millivoltmètre que nous supposons *à priori* proportionnelle au flux lumineux qui tombe sur la cellule ; dans la quatrième, le rapport de l'intensité $\frac{I}{I_0}$ d'après la loi de Beer Lambert et dans la cinquième le logarithme naturel de cette grandeur.

TABLEAU I

	gouttes	mgr. SO^4H^2	D	I/Io	log I/Io		gouttes	mgr. SO^4H^2	D	I/Io	log I.Io
	0	0	87	1.000	0		0		86	1.000	0
SO^4H^2	1	0.122	78	0.896	$\bar{1}$.952	SO^4H^2	1	0.061	83	0.965	$\bar{1}$.985
	5	0.612	54	0.624	.792		5	0.306	76	0.891	.950
5 N/100	10	1.225	40	0.460	.662	2,5	10	0.612	67	0.78	.892
	15	1.84	33	0.379	.579	N/100	15	0.918	62	0.722	.858
	20	2.45	30	0.345	.538		20	1.225	57	0.664	.822
	25	3.06	27	0.311	.492		25	1.53	52	0.605	.781
	30	3.67	24	0.276	.440		30	1.84	47	0.547	.738

	gouttes	mgr. SO^4H^2	D	I/Io	log I/10
	0	0	86	1.000	0
SO^4H^2	1	0.030	86	0.999	$\bar{1}$.995
	5	0.153	79	0.919	.963
1,25	10	0.306	73	0.85	.930
N/100	15	0.460	69	0.802	.904
	20	0.612	65	0.755	.878
	25	0.765	63	0.733	.865
	30	0.92	62	0.721	.858

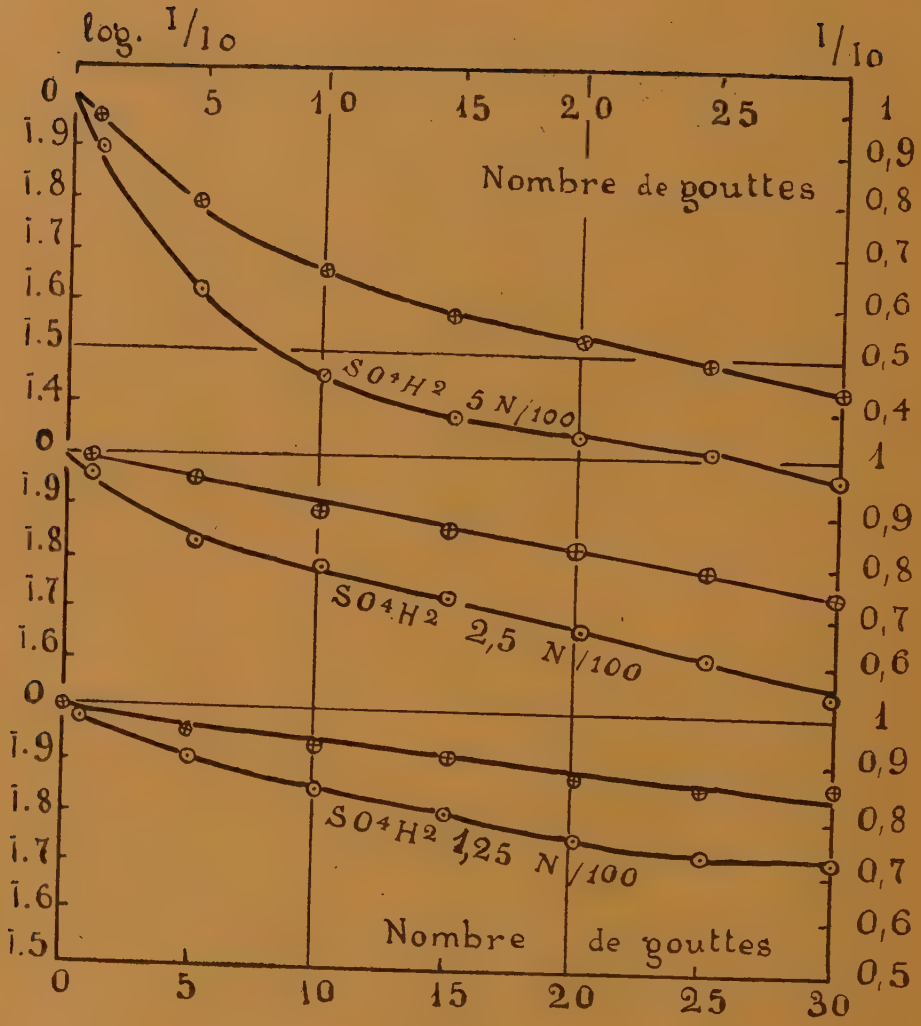

Figure 3

La courbe de la figure 3 représente d'après l'échelle de gauche la diminution de l'intensité lumineuse qui tombe sur la cellule au fur et à mesure que la concentration sulfurique augmente et la représentation logarithmique. On voit que cette dernière représentation correspond à une bonne droite expérimentale, ceci montre que dans les conditions de dilution que nous employons, les particules très fines du sulfate de baryte qui se

précipitent au sein de la solution permettent une application directe et simple de la loi de Beer Lambert.

L'opération que nous avons faite comme nous l'avons décrite, n'est pas absolument correcte ; la concentration du chlorure de baryum et la concentration correspondante de l'acide sulfurique ne sont pas sans changement de volume puisque à 5 cc de solution $BaCl^2$, nous avons finalement ajouté trente gouttes de solution d'acide sulfurique et que le volume a dû passer progressivement de 5 à 6,5 cc ; c'est-à-dire que le volume a subi une variation très considérable de 30% au cours de l'opération de précipitation accompagnée d'une dilution.

On peut penser, après cette remarque, que la courbe logarithmique ainsi obtenue n'est rectiligne que d'une manière toute fortuite et que par un heureux hasard une dilution de la solution initiale vient compenser d'une manière presque parfaite l'écart qui existerait probablement entre la loi expérimentale et la loi de Beer Lambert si nous avions travaillé à volume constant.

Comme nous cherchons, non pas à vérifier des lois ou à établir des formules, mais, au contraire, à mettre sur pied une technique simple, nous pourrons dans les études à venir, nous rappeler le cas particulier, tout à fait remarquable, de notre précipitation sous volume croissant qui finalement se traduit par une expression mathématique simple.

Les observations que nous venons de décrire ont été faites en lumière blanche, nous les avons répétées en lumière jaune et nous avons obtenu les mêmes résultats.

A chaque lecture du photocolorimètre, nous avions bien soin d'agiter la solution ; comme la mesure du millivoltmètre dure un temps très court de l'ordre de 1/4 de minute, nous n'avons pas observé la sédimentation du précipité ; il est certain qu'au bout d'un temps de l'ordre de 1/4 d'heure ou une heure une importante sédimentation se produit introduisant des causes d'erreur capitales.

CHAPITRE II

SOLUTIONS GÉLATINÉES

Comme dans certaines circonstances, il n'est pas possible de faire la lecture immédiatement et en suivant l'exemple de Denis et Reed, nous avons pensé qu'il serait peut être utile de stabiliser la suspension colloïdale avec un colloïde protecteur en faisant appel à la gélatine.

Denis et Reed ont employé la gélatine pure du commerce.

Obermer et Milton ont employé des mélanges de peptone et de gomme Ghatti.

Nous avons essayé, nous-mêmes, des précipitations en solution contenant du saccharose, de la glycérine, de l'amidon soluble.

Nous avons essayé la précipitation du chlorure de baryum par l'acide sulfurique en solution gélatinée conformément aux techniques de Denis et Reed.

Rappelons la composition de leur solution de base :

Gélatine.....	50 gr.
HCl N/100.....	900 cc
Solution de $BaCl^2$ à 5%.....	100 cc

Nous avons pris 5 cc de cette solution et comme dans le cas précédent, nous avons fait tomber l'acide sulfurique N/20, 2,5 N/100 et 1,25 N/100, goutte à goutte de façon à opérer comme précédemment, mais nous avons employé des solutions de chlorure de baryum de titre variable respectivement pour chacune de ces trois solutions 12 p. 10000, 6 p. 10000 et 3 p. 10000 les résultats obtenus sont contenus dans le tableau II.

TABLEAU II

	gouttes	D	I/Io	log. I/Io		gouttes	D	I/Io	log. I/Io
SO^4H^2 5 N/100	0	100	1.00	0	SO^4H^2 2,5 N/100	0	100	1.00	0
	1	84	0.84	$\bar{1}$.924		1	95	0.95	$\bar{1}$.978
	5	35	0.35	.544		5	68	0.68	.832
	10	19	0.19	.178		10	46	0.46	.662
	15	14	0.14	.146		15	37	0.37	.568
	20	11	0.11	.141		20	25	0.25	.398
	25	11	0.11	.141		25	24.5	0.245	.390
	30	11	0.11	.141		30	24.5	0.245	.390

	gouttes	D	I/Io	log I/Io
SO^4H^2 1,25 N/100	0	100	1.00	0
	1	97	0.97	$\bar{1}$.986
	5	72	0.72	.857
	10	56	0.56	.748
	15	50	0.50	.700
	20	48	0.48	
	25	47	0.47	
	30	47	0.47	

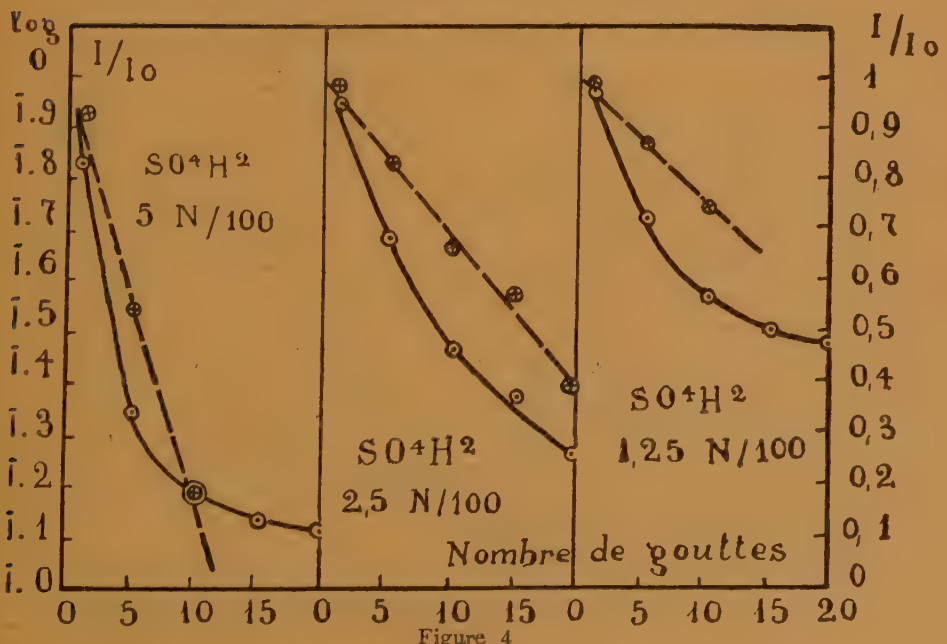

Figure 4

La Figure n° 4 montre la forme des courbes pour la première solution et les trois droites logarithmiques pour les trois solutions.

On constate que la présence du colloïde protecteur modifie beaucoup les conditions de la précipitation ; la logarithmique cesse d'être une droite. Tout au plus, peut-on dire que pour les trois premiers points, on obtient une courbe peu différente d'une droite ; on peut donc dans une certaine mesure, considérer que, dans son début, le phénomène, à une petite erreur près, peut satisfaire encore à la loi de Beer Lambert.

L'examen étendu du tableau montre que la relation logarithmique employée sur les trois premiers points correspond pour chacune des expériences au passage de la déviation de 100 à 19 de 100 à 37, de 100 à 56 représentant une variation très considérable de l'opacité de la solution et l'on se rappelle que la courbe de sensibilité de la cellule photoélectrique n'est pas une droite, on se rend compte que si l'on s'astreint à ne produire que des précipitations donnant des variations pas très grandes de la déviation lue sur le millivoltmètre, on peut encore considérer la loi de Beer Lambert comme applicable dans l'opération que nous avons pratiquée ici.

Nous avons encore fait varier simultanément la précipitation et la dilution : le volume passant de 5 cc à 6,5 cc.

Dans leur étude critique des méthodes générales de dosage et particulièrement de la méthode néphélémétrique, Obermer et Milton ont trouvé que la technique de Denis et Reed au moyen de la gélatine ne donne pas de résultats satisfaisants et présente des erreurs dues à des précipitations variables. Ils montrent que bien des facteurs modifient la densité optique de la suspension tels que la rapidité d'addition, de la gélatine et des réactifs, la concentration de l'acide sulfurique, les électrolytes, etc...

C'est à ces phénomènes que nous attribuons le fait que nous venons d'exposer de la discordance entre la loi de Beer Lambert et la précipitation en milieu gélatiné.

Nous devons tenir largement compte de ces observations, car l'addition, non pas d'une solution pure de SO^4H^2, mais de l'urine ou de liqueurs qui en dérivent par traitement préliminaire, risquent d'introduire d'importantes causes d'erreur provenant de tous les constituants normaux ou anormaux de l'urine.

Influence du temps

Ayant observé de petites différences dans le cas des solutions observées immédiatement et des solutions ayant subi un vieillissement de quelques minutes, nous avons cherché à nous rendre compte de l'influence du temps.

Nous avons alors comparé la précipitation en milieu gélatiné soit par solution d'acide sulfurique, soit par l'urine. Nous avons constaté que l'influence du temps est tout à fait nulle en ce qui concerne le précipité SO^4Ba pur. Il n'en est plus de même en ce qui concerne l'urine ; on trouve dans la figure 5 la représentation graphique du phénomène où la déviation en lumière blanche change en fonction du temps ; selon qu'à la solution de $BaCl^2$ on a ajouté deux gouttes et jusqu'à sept gouttes d'urine. On constate pour la plupart des solutions une durée de vieillissement très importante se traduisant par des temps de dix minutes à partir du mélange des solutions.

TABLEAU III

gouttes	temps	Div.	gouttes	temps	Div.	gouttes	temps	Div.
0		100	0		100	0		100
II Ur.	0	76	III Ur.	0	62.5	IV Ur.	0	58
norm.	2'	76	norm.	2'	59		2'	47
	5'	73		5'	55		5'	45
	10'	73		10'	50.5		10'	44
	20'	73		20'	50.5		20'	43
	40'	76		40'	49.5		40'	44
	60'	76		60'	50.5		60'	43

gouttes	temps	Div.	gouttes	temps	Div.	gouttes	temps	Div.
0		100	0		100	0		100
V Ur.	0	48	VI. Ur.	0	43	VII Ur.	0	35
norm.	2'	38	norm.	2'	35	norm.	2'	30
	5'	36.5		5'	33,5		5'	30
	10'	36		10'	32		10'	29.5
	20'	37		20'	32		20'	30
	40'	37		40'	33,5		40'	36.5
	60'			50'	35			

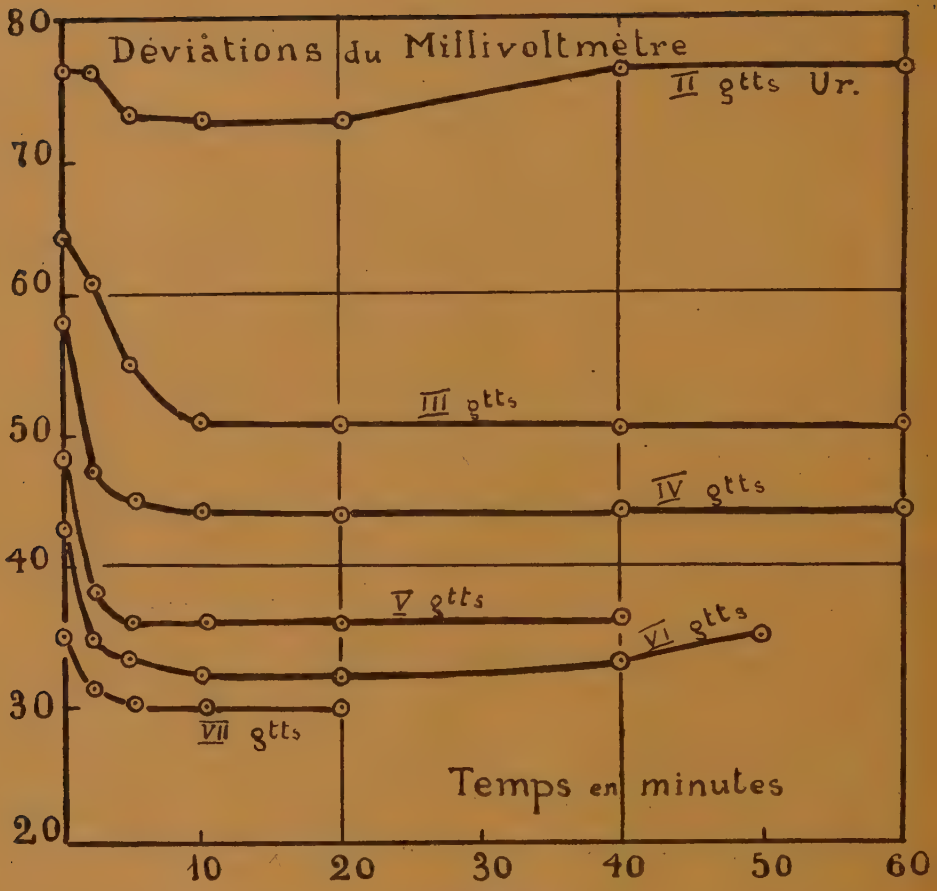

Figure 5

Les variations de la déviation du millivoltmètre peuvent atteindre dix unités sur 60. On constate, cependant, qu'au bout de dix minutes, à un quart d'heure, la déviation du millivoltmètre ne varie plus ; on peut admettre que dans ces conditions si on laisse vieillir le précipité SO^4Ba stabilisé par la gélatine, on obtiendra des solutions dont la densité optique reste pratiquement constante.

Il était important de se rendre compte de la grandeur de la variation suivant la quantité de sulfate ajouté simultanément avec les matières étrangères de l'urine. Nous avons porté dans le tableau les variations de la déviation du millivoltmètre V en rapport avec le nombre de gouttes et avec la déviation initiale.

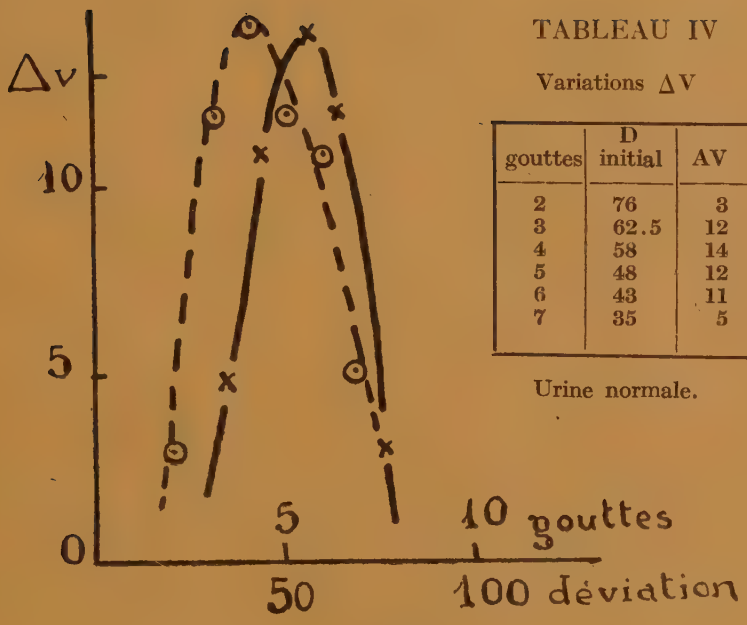

Figure 6

TABLEAU IV

Variations ΔV

gouttes	D initial	AV
2	76	3
3	62.5	12
4	58	14
5	48	12
6	43	11
7	35	5

Urine normale.

On constate que la maturation du précipité se traduit par une variation de la densité optique qui présente un maximum pour quatre gouttes d'urine et une diminution de déviation de l'ordre de 1/3. On touche du doigt par cette expérience l'importance des éléments étrangers de l'urine auxquels il faudra apporter la plus grande attention pour éviter d'introduire ultérieurement des causes d'erreur et éviter par là, de rendre tout à fait inextricables les lectures des densités optiques des suspensions.

CHAPITRE III

SOLUTIONS DIVERSES

La solution gélatinée de Denis et Reed présente l'inconvénient d'être assez altérable. Pour améliorer sa conservation, nous l'avons additionnée de chloroforme.

Un essai avec une solution de $BaCl^2$ à 6 0/000 en travaillant à volume constant, nous a donné une courbe logarithmique non rectiligne, légèrement variable avec le temps.

Par addition de chloroforme, si l'on augmente la stabilité de la solution, on n'améliore pas la précipitation de SO^4Ba.

Nous avons essayé avec succès la précipitation dans milieu additionnée d'amidon soluble, avec ou sans glycérine, du saccharose : aucune amélioration n'a été obtenue.

Il semble donc bien que ces faits ainsi que ceux observés par Obermer et Milton avec la peptone et la gomme Ghati corroborent l'opinion de Chèneveau et Audebert (20) : toute précipitation de SO^4Ba, en présence d'un colloïde protecteur donne des granules inégaux, et l'opacité de la suspension est donnée par la loi plus compliquée où la logarithmique cesse d'être rectiligne ; un exposant B affecte la concentration M de la solution (page 68).

CHAPITRE IV

MICROMETHODE PAR GOUTTES

Un compte goutte normal permet une mesure de volume précise à mieux que 1% près dans un milieu à température et état hygrométrique constant. Ceci n'est vrai que pour les solutions pures diluées dans l'eau distillée. Pour des liqueurs complexes comme les urines, il est impossible de se baser sur la mesure de gouttes, en raison des variations très grandes de la tension superficielle. La méthode reste applicable à condition que l'on étalonne le compte goutte par pesée.

Pour nous rendre compte de la possibilité d'application d'une telle méthode, nous avons utilisé un compte gouttes normal avec une solution de SO^4H^2 N/40 et de l'urine normale.

Voici le détail de nos opérations :

5 cc de solution gélatinée de DENIS et REED a reçu cinq gouttes d'urine. Le millivoltmètre réglé à 100 avec l'eau distillée a marqué 44,5. Puis nous avons ajouté cinq gouttes de SO^4H^2 N/40 ; après avoir agité, le millivoltmètre a marqué 24 : en appliquant la loi de BEER LAMBERT, on trouve :

$$\text{Colog } \frac{I_1}{I_0} = KC_1$$

$$\text{Colog } \frac{I_2}{I_0} = KC_2$$

On a donc :

I_1/I_0	Colog I_1/I_0
0.445	0,352
0.24	0.620

$$\frac{\text{Colog } I_1/I_0}{\text{Colog } I_2/I_0} = \frac{C_1}{C_2} = \frac{C_1}{C_1 + p}$$

ou $\frac{0.352}{0.620} = 0.587 = \frac{C_1}{C_1 + p}$

$$C_1 = \frac{p \times 0.587}{1 - 0.587} = \frac{p \times 0.587}{0.413}$$

Calcul de p.

Vingt gouttes de SO^4H^2 N/40 pèsent 1,036 gr. ; le volume est donc sensiblement 1,036 cc.

Cinq gouttes ont un volume de 0,259 cc.
Or, 1 cc SO^4H^2 N/40 contient 1,25 mg. SO^4H^2.
$p = 0,259 \times 1,25 = 0,374$ mg. SO^4H^2.

Calcul brut.

Cinq gouttes d'urine contiennent donc :

$$\frac{0.324 \times 0.587}{0.413} = 0,460 \text{ mg.}$$

Calcul du volume de cinq gouttes d'urine.

L'urine ayant une densité de 1,018, vingt gouttes pèsent 0,939 gr., cinq gouttes occupent un volume de :

$$\frac{0,939}{4 \times 1,018} = 0,230 \text{ cc}$$

Calcul définitif.

SO^4H^2 libre dans un litre de cette urine est donc égal :

$$\frac{0,460 \text{ mg} \times 1000}{0,230} = 2,05 \text{ gr.}$$

Nous avons effectué sur cette urine, un dosage à la benzidine et nous avons trouvé 2,1 gr. 0/00.

L'accord entre les deux mesures est donc excellent.

L'exemple que nous donnons ici montre que si l'on prend quelques précautions qui se traduisent par de simples pesées, la microméthode par gouttes et la néphélémétrie sont applicables à des liquides complexes.

SIXIEME PARTIE

INFLUENCE DES IMPURETÉS SUR LA PRÉCIPITATION

L'urine contient des substances ionisables du type des sulfates, capables, comme nous l'avons vu, en raison de la charge des ions, de venir s'adsorber sur le colloïde protecteur.

Elle contient aussi des substances non ou faiblement ionisables, telles que l'urée, l'acide urique, etc...

La question doit se poser de savoir comment un mélange de telles substances peut modifier l'opacité de la suspension de SO^4Ba en présence de la gélatine.

Rappelons, tout d'abord, la composition de l'urine normale avec ses principaux constituants :

	Homme de 66 kg gr.	par litre gr.	par kg de poids vivant 2 gr.
Eau	1500	952	23
Résidu fixe	72	58	1,100
Urée	33,18	22,10	0,500
Acide urique	0,55	0,36	0,008
Acide hippurique	0,40	0,26	0,006
Corps puriques	0,005	0,003	0,006
Créatine	0,91	0,60	0,014
Acide oxalique	0,025	0,017	0,014
Pigments divers et autres matières organiques	10	1,66	0,014
Acide glycéro phosphorique	0,015	0,010	0,014
Acide phosphorique	3,16	2,10	0,048
Acide sulfurique	2,01	1,36	0,030
Ammoniaque	0,77	0,51	
Chlore	7–8	4,66–5,33	0,126
Potassium	2,50	1,66	
Sodium	11,09	7,39	
Calcium	0,26	0,17	
Magnésium	0,21	0,14	

Selon notre technique à volume constant, nous avons utilisé 20 cc de réactif de DENIS et REED auxquels nous avons ajouté 10 cc d'eau.

Mode opératoire.

On prend :

a) 20 cc de réactif auquel on ajoute 10 cc d'eau. La division du photocolorimètre est de 100.

b) 20 cc de réactif auquel on ajoute 9,5 cc d'eau et 9,5 cc de solution SO^4H^2 N/40. on lit la division D_1.

c) 20 cc de réactif auquel on ajoute 9 cc d'eau et 1 cc de solution SO^4H^2 N/40. On lit la division D_2.

Pour nous rendre compte de l'action des substances dissoutes dans l'urine, nous avons ajouté un certain volume de solution de ces substances à la concentration de 1% afin de réaliser la concentration normale de ces substances dans l'urine, dans les n cc d'eau distillée. complémentaire des expériences précédentes.

TABLEAU V

Corps dissous Sol. 1%	cc ajoutés	D_1	D_2	$\log \frac{D_1}{D_0}$	$\log \frac{D_2}{D^0}$	col. $\frac{D_1}{D_0}$	col. $\frac{D_2}{D_0}$	R	Rapport $R/1-R$	Résultat au lieu de 2
SO^4H^2 N/40..		62	48	$\bar{1}.793$	$\bar{1}.683$	0.207	0.317	0.67	$\frac{0.67}{0.33}$	2.03
NaCl	10	60	47	.778	.313	0.222	0.328	0.687	$\frac{0.687}{0.313}$	2.16
SO^4H^2 Ca. . .	0.8	59	46	.771	.319	0.229	0.336	0.681	$\frac{0.682}{0.318}$	2.14
SO^4H Na^2....	1.5	63	50	·800	.335	0.200	0.301	0.665	$\frac{0.665}{0.335}$	1.98
NH^4 Cl.	0.7	63	51	·800	.315	0.200	0.292	0.685	$\frac{0.685}{0.315}$	2.17
CO^3 Na^2	0.5	63	51	d°	d°	d°	d°	d°	d°	d°
Urée.....	22	63	51	d°	d°	d°	d°	d°	d°	d°
Acide urique.		62	49	.793	.690	0.207	0.310	0.67	$\frac{0.67}{0.33}$	2.03

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

On voit qu'en général, la présence d'une substance étrangère augmente le résultat ; les variations, sauf pour le phosphate acide de sodium, atteignent 8%. Cet écart n'est pas très grand ; il montre que de petites modifications de technique pourraient améliorer ce résultat et rendre le dosage direct par néphélémétrie, possible pour l'urine : on peut espérer, par exemple, s'en tirer avec la méthode au volume variable (page 66).

SEPTIEME PARTIE

MÉTHODE DES VERRES DE GÉLATINE

Nous avons constaté que des sels neutres comme le chlorure de baryum se mélangent avec de la gélatine en solution concentrée, donnent des solutions opalescentes. Nous avons pensé qu'il serait peut-être commode de faire quelques observations qui puissent servir de base à la technique suivante. Une solution aqueuse très concentrée de gélatine à 20% peut se diluer avec un volume égal soit d'eau, soit de solution : le mélange tout à fait fluide et de température de 60° à 80°, se prend peu à peu en gel au refroidissement.

On peut imaginer une méthode de dosage basée sur l'excès de chlorure de baryum restant en solution. Si à une solution de chlorure de baruym à 1% on ajoute des ions SO^4 la concentration en chlorure de baryum diminue et si après centrifugation, on ajoute cette solution à la gélatine, on obtiendra un milieu moins opalescent. Pour réaliser ce projet, nous avons construit une petite cuve sur une lame de verre pouvant glisser dans l'une des montures du photocolorimètre à cellule photoélectrique. La cuve est démontable ; elle permet d'enfermer entre deux lames de verre un gel de gélatine opalescent de 2 mm d'épaisseur. Nous avons fait des essais avec des solutions de chlorure de baryum à 1% et à 1 0/00 et nous nous sommes préoccupé de savoir si des doses croissantes de chlorure de baryum pouvaient entre les deux opalescences ainsi obtenues et qui sont très différentes, nous donner une gamme d'opacité obéissant à une loi simple.

Nous avons utilisé pour cette recherche, du chlorure de

baryum dissous à 1%, alcalinisé par trois gouttes de soude N/10 pour 10 cc de solution. Nous avons ajouté ce mélange par dizièmes de cc à 1 cc de solution de gélatine à 20% et en complétant chaque fois à un volume total de 2 cc. Pour mesurer 1 cc de gélatine à 20%, on utilise une pipette ordinaire, dans laquelle on aspire plusieurs fois l'eau chaude du bain marie ; il est très facile dans ces conditions, de mesurer 1 cc de solutions de gélatine dans la pipette ainsi chauffée.

Cette quantité de solution est placée au fond d'un tube à essai, on ajoute 0,1, 0,2 cc etc... de solution $BaCl^2$ à 1%, puis on ajoute 0,9, 0,8 cc d'eau, on chauffe le tube à essai pendant un certain temps dans le bain-marie, puis on verse le liquide ainsi obtenu avec précaution dans la cuve plate ; on obtient très facilement entre les lames de verre, un gel de gélatine sans bulles et qui ne coule pas. Il faut attendre pour cela quelques minutes afin que le gel se prenne convenablement. On peut ensuite glisser ce gel de gélatine opalescent dans la monture du photocolorimètre et on lit la division du millivoltmètre.

$BaCl^2$ 1%	M	HO^2	D
0	0	1	100
0.1	10	0.9	54
0.2	20	0.8	34
0.5	50	0.5	18
1	100	0	14

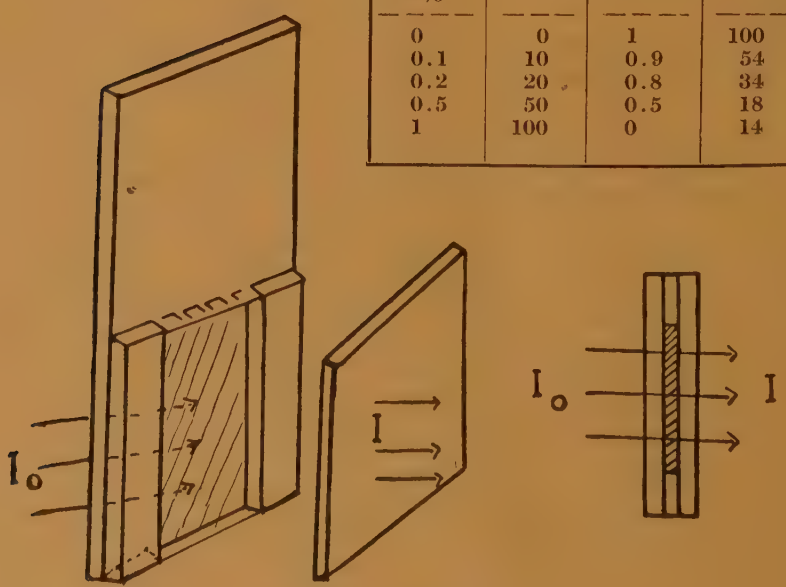

Figure 7

Ayant fixé la suspension opalescente dans le gel, il n'y a pas lieu de redouter une sédimentation. Nous avons pu constater en répétant la mesure au bout d'une demi-heure que l'aiguille du millivoltmètre revenait exactement à la même division. Nous avons porté dans le tableau les résultats des mesures et la courbe que l'on obtient n'est pas une logarithmique. On peut se rendre compte qu'elle est mieux assimilable à une branche d'hyperbole, mais dont cependant il faut placer aussi bien que possible l'asymptote à la branche horizontale.

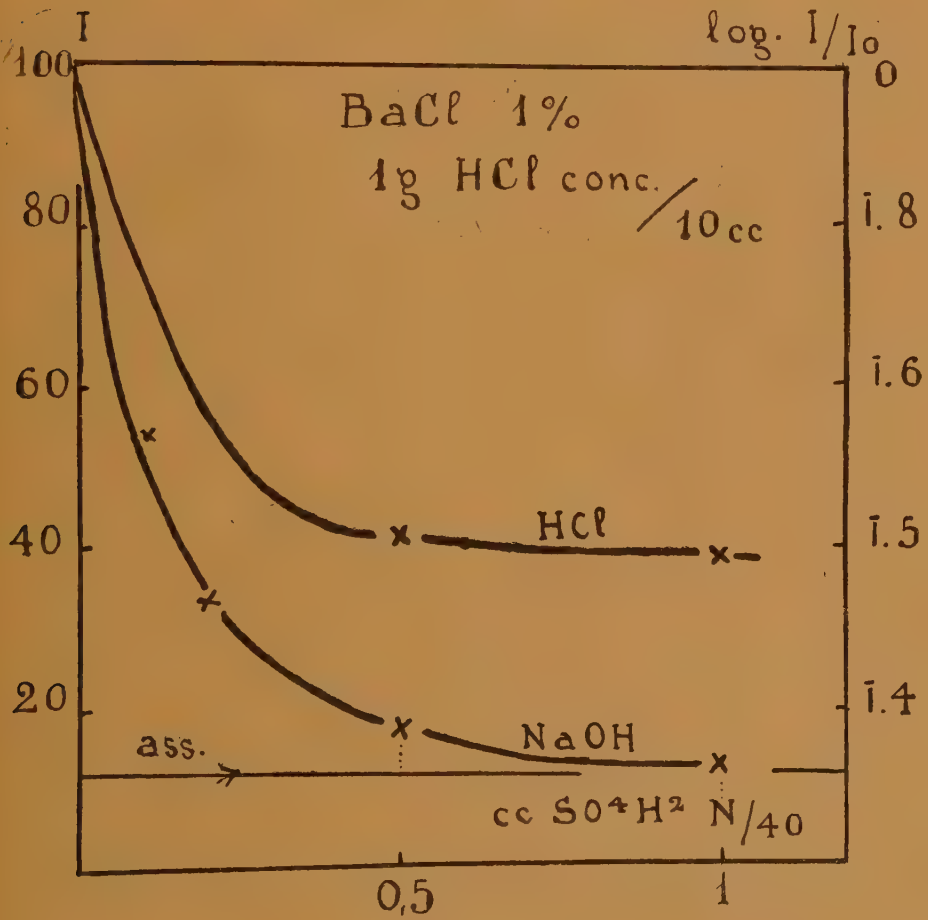

Figure 8

Dans le cas présent, si nous la situons à la division 10 et si nous appelons *a* cette grandeur en formant le produit

$$k = (d-a)\ c \qquad c = \text{concentration},$$

on obtient un produit qui est sensiblement constant.

cc	d	d–a	k
0,1	54	44	44
0,2	32	23	46
0,5	18	8	40
1	14	4	40
1a	10		moyenne : 45

Nous avons répété l'expérience avec des solutions $BaCl^2$ neutres ou acidifiées par HCl (une goutte de solution concentrée pour 10 cc). Les courbes obtenues par les indications du millivoltmètre en fonction de la concentration de $BaCl^2$ dans la gélatine s'analysent beaucoup moins bien.

TABLEAU VI

	$BaCl^2$ 1/00		$BaCl^2$ 1%		$BaCl^2$ 1% + HCl		$BaCl^2$ 1% + NaOH	
	I	log I/Io	I	log I/Io	I	log I/Io	I	log I/Io
0	100	0	100	0	100	0	100	0
0.1	—	—	—	—	—	—	34	$\bar{1}$.531
0.2	—	—	—	—	—	—	54	.732
0.5	71	$\bar{1}$.852	42.5	$\bar{1}$.628	42	$\bar{1}$.623	18	.255
1	62	.792	22.5	.352	38	.590	15	.176

Il est donc préférable d'opérer avec une liqueur alcaline.

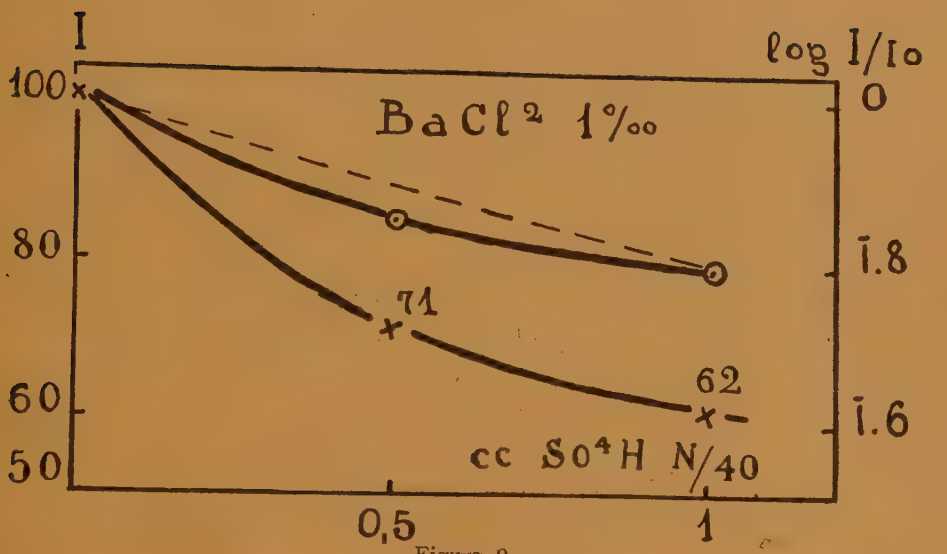

Figure 9

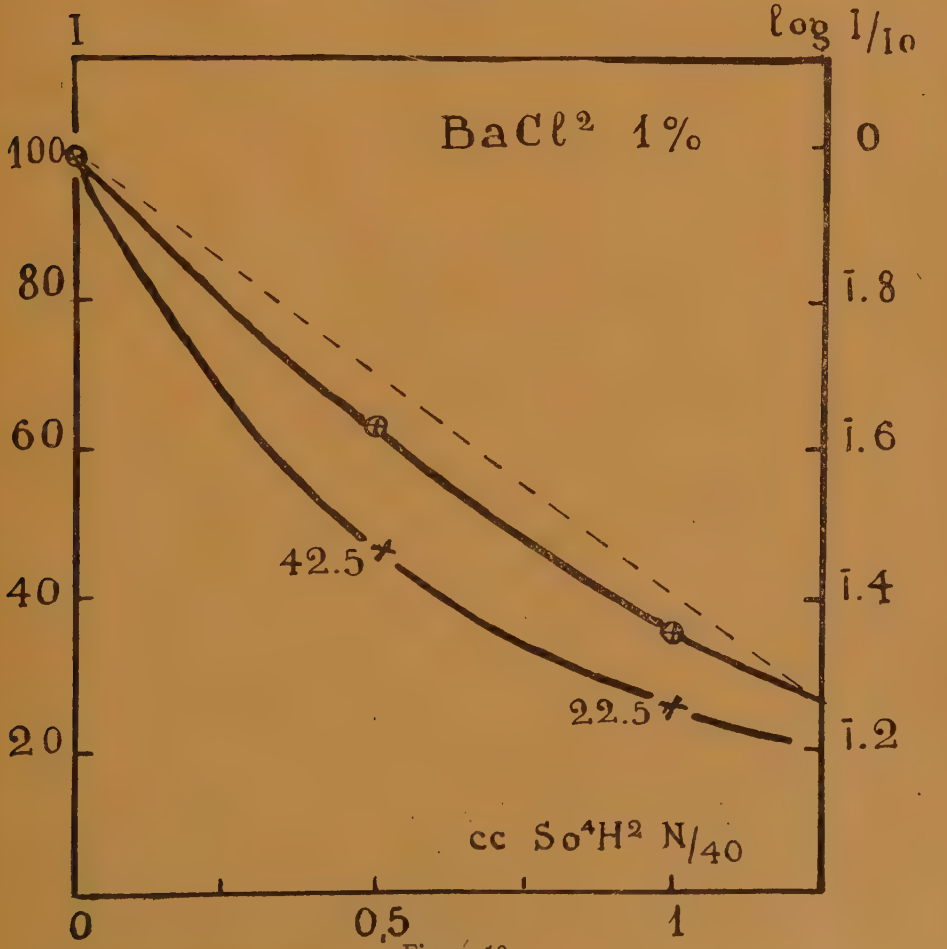

Figure 10

L'expression que nous avons écrite :

$$(d-a)\,c = k \qquad k = \text{constante}$$

peut se transformer en

$$d = \frac{k}{c} + a \qquad a = \text{constante}$$

or, la déviation d dans le colorimètre photoélectrique est proportionnelle à $\frac{I}{I_0}$ et l'on peut écrire en changeant les constantes :

$$\frac{I}{I_0} = \frac{K}{C} + A$$

Il est aisé de relier cette formule aux expressions de Chèneveau et Audebert (20) dans lesquelles on trouve la relation

$$\frac{I}{I_0} = 1 - e^{-\frac{B}{M\beta}}$$

en faisant $\beta = 1$ et $M = c$

$$\frac{I}{I_0} = 1 - e^{-\frac{B}{C}}$$

et en développant en série :

$$\frac{I}{I_0} = 1 - \left[1 - \frac{B}{C} + \frac{B^2}{2\,!\,C^2} - \frac{B^3}{3\,!\,C^3} + \text{———}\right]$$

et en négligeant les termes à partir du second ordre :

$$\frac{I}{I_0} = \frac{B}{c}$$

Pour une forte concentration en $BaCl^2$, I_0 tend vers la valeur $I\,\infty$ on doit donc écrire :

$$\frac{I - I\,\infty}{I_0} = \frac{B}{c}$$

d'où :

$$\frac{I}{I_0} = \frac{B}{C} + \frac{I\,\infty}{I_0} = B/C + A$$

expression identique à celle que nous avons trouvée.

Il en résulte que le *modus operandi* sus-indiqué fait rentrer le gel de gélatine opalescent par effet de sel en milieu alcalin dans les conditions de précipitation susceptibles d'une interprétation simple et exposée page 68 du présent travail.

La technique que nous avons mise sur pied ici, nous paraît donc susceptible d'une application étendue.

De nouvelles recherches vont prochainement être mises en cours pour fixer divers points d'applications théoriques et pratiques.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Le travail que nous présentons ici constitue essentiellement une mise au point d'une importante et difficile question avec un commencement d'études expérimentales qui peut servir d'indications pour les études ultérieures.

Nous nous étions proposé de mettre sur pied une technique par la méthode néphélémétrique, de dosage du soufre dans les urines sous trois formes : le soufre ionisable, le soufre hydrolysable et le soufre complexe. Les recherches antérieures que nous avons reprises au préalable, nous ont montré que le problème avait tenté un grand nombre d'auteurs, et qu'aujourd'hui la question était loin d'être résolue.

Dans la première partie de ce travail, nous avons exposé quel est l'intérêt clinique qui s'attache à la résolution du problème et quelles furent les tentatives faites pour le résoudre.

Dans les deuxième et troisième parties, nous exposons les méthodes d'ordre chimique qui, pour des raisons diverses, ne peuvent pas faire l'objet d'un nombre considérable de dosages en raison de la lenteur et de la difficulté de la technique.

Dans la quatrième partie, nous nous attachons à bien préciser les conditions dans lesquelles il faut se placer d'après Chenevau et Audubert pour que le dosage néphélémétrique soit possible.

Dans la cinquième partie, nous avons posé les conditions de concentration à remplir relativement aux doses habituelles du soufre dans l'urine et nous proposons quelques méthodes afin de résoudre la question.

Nous avons observé que l'addition de chlorure de baryum dissous ajouté à une solution sulfurique peut donner une loi

logarithmique simple si au lieu d'opérer à volume constant, on procède par volumes croissants. Il n'y a bien entendu ici qu'une coïncidence fortuite (donc un effet réglable), l'augmentation de volume venant compenser les écarts de la loi expérimentale par rapport à la loi théorique vraie, mais cette compensation est légitime, car nous cherchons à établir seulement une technique de laboratoire.

Nous avons essayé une méthode nouvelle basée sur la préparation de gel de gélatine presque solide. On n'a plus à redouter ici des changements de concentration par sédimentation ou par agglomération des grains. Nous avons trouvé que cette technique est en rapport étroit avec les lois théoriques découvertes par CHENEVEAU et AUDUBERT.

Nous avons ensuite abordé la question tout à fait capitale du rôle des impuretés existant en solution à côté des combinaisons soufrées. Ce problème qui ne se poserait pas dans le cas d'un dosage de chimie analytique, a, au contraire, une importance capitale en ce qui concerne les produits soufrés de la chimie biologique.

Comme nous l'avons dit plus haut, nous offrons ici surtout un travail de bibliographie, mias nous pensons que les applications pratiques présentées dans le présent travail seront l'amorce de travaux ultérieurs qui permettront probablement d'atteindre le but que nous nous étions proposé tout d'abord : pouvoir avec facilité et avec rigueur exécuter 200 dosages de sulfates par jour.

BIBLIOGRAPHIE

1. F.-Pierre JOLY : Voir Maillard, Thèse Médecine, Paris 1920. *Contribution à l'étude du soufre urinaire*, p. 25.
2. Albert MOREL : *Précis de technique chimique à l'usage des laboratoires médicaux*, p. 176-179. Editeur : O. Doin et Fils, Paris.
3. P. YVON : *Manuel clinique de l'analyse des urines*, 5e édition, p. 138-140.
4. CHARCOT : *Leçons sur les maladies du système nerveux*, t. I, art. Paralysie agitante.
5. CHIRAY : Voir « Lœper », *Intoxications et carences alimentaires*, p. 56-61. Editeur : Masson, Paris.
6. WURTZ : *Dictionnaire de chimie*, p. 1627.
7. J. BOSC : Voir « Wildenstein », Thèse Médecine, Montpellier, 1901. *Contribution à l'étude du soufre urinaire*, p. 24.
8. J. BOSC : Voir « Mohr », Thèse Médecine, Montpellier, 1901. *Contribution à l'étude du soufre urinaire*, p. 25.
9. NEUBAUER et VOGEL : Neubauer et Vogel, *de l'urine*, p. 336.
10. J. BOSC : Thèse Médecine, Montpellier, 1901. *Contribution à l'étude du soufre urinaire.*
11. DERRIEN et FONTÈS : *Chimie Biologique Médicale*, p. 271-274. Editeur : : J.-B. Baillière et Fils, Paris.
12. BENEDICT : *The Journ. of Bio. Chem.* T. LXVII, p. 267 (1926)
13. Mme POHORECKA-LELEZ : *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1927. T. IX, p. 113-263.
14. C.-H. FISKE : *The Journ. of Bio. Chem.* T. XLVII, p. 57.
15. MM. LESURE et DUNEZ : *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1928. T. X, p. 879.
16. MM. LESURE et DUNEZ : *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1929, T. XI, p. 601.
17. M. CHATRON : *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1931. T. XIII, p. 301.
18. E. OBERMER et MILTON : *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1932. T. XIV, p. 1441.
19. DENIS et REED : *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1931. T. XIII, p. 307.
20. CHEVEVEAU et AUDUBERT : Voir « Canals et Hortala ». *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1933. T. XV, p. 1536.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS 19

INTRODUCTION 21

PREMIÈRE PARTIE. — *Généralités* 23

1° Ouvrages classiques 23

2° Intérêts cliniques 30

DEUXIÈME PARTIE. — *Dosages cliniques* 35

1° Dosages en SO^4Ba par la méthode des approximations successives 36

2° Microdosage pondéral en SO^4Ba 42

TROISIÈME PARTIE. — *Méthode nephelemétrique* 52

QUATRIÈME PARTIE. — *Position du problème* 60

1° Technique de la précipitation en SO^4H^2 62

2° Colloïdes protecteurs 64

3° Formule générale de l'absorption de la lumière 67 70

4° Applications logarithmiques 73

CINQUIÈME PARTIE. — *Recherche de la suspension colloïdale.*

1° Solutions aqueuses 73

2° Solutions gélatinées 78

3° Solutions diverses 84

4° Microméthode par gouttes 85

SIXIÈME PARTIE. — *Influence des impuretés sur la précipitation* 87

SEPTIÈME PARTIE. — *Méthode des verres de gélatine* 91

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 98

BIBLIOGRAPHIE 100

Vu, Clermont-Ferrand, le 2 Août 1940.

Le Président du Jury :

A. SARTORY

Vu et approuvé, Clermont-Fd, le 2 Août 1940.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie :

A. SARTORY

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 4 Août 1940

Le Recteur de l'Académie, Président du Conseil de l'Université.

Pour le Recteur,

Le Vice-Président du Conseil de l'Université :

A. DANJON.